



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

Análise bioquímica e imunológica da saliva em doentes submetidos a radioterapia

Trabalho submetido por
Margarida Urpina Portugal Cabrita Matias
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Junho de 2015



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

Análise bioquímica e imunológica da saliva em doentes submetidos a radioterapia

Trabalho submetido por
Margarida Urpina Portugal Cabrita Matias
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Prof. Doutor José Silva Marques

Junho de 2015

Agradecimentos

Em primeiro lugar gostaria de agradecer à minha família.

À minha mãe pela paciência de ler esta de todas as vezes que pedi, pelas ideias dadas e pelo criticismo que me ajudou a chegar mais longe.

Ao meu pai, irmãos e avós que sempre mostraram interesse pelo desenlace deste desafio.

Aos meus tios, Zé e Xana, pelo fornecimento de equipamento técnico compatível com a realização deste trabalho e pelo espírito de luta que me incutem.

Gostaria também de agradecer ao meu orientador, Professor José Silva Marques pelos conselhos, paciência e ajuda dada ao longo da evolução deste projeto.

Também gostaria de agradecer ao Doutor Jorge Vaz pela colaboração.

E finalmente, um sincero obrigada ao Doutor Nuno Miranda pela disponibilidade e apoio dado nas fases iniciais e mais críticas de lançamento e concretização desta ideia.

Resumo

A incidência do cancro de cabeça e pescoço tem vindo a aumentar rapidamente sendo que a atualização das modalidades de tratamento torna-se necessária no sentido de reduzir os efeitos tóxicos inerentes. A multitude de funções da saliva reflete a sua importância no nosso dia-a-dia. O tratamento destes cancros, com recurso a radiação, mostra impacto na qualidade e quantidade salivar e isto reflete-se na diminuição da qualidade de vida dos doentes. O aparecimento de técnicas, como o IMRT, que visam diminuir os efeitos tóxicos é de extrema importância, principalmente em regiões como a cabeça e o pescoço. Vários estudos anteriores revelam que o IMRT de facto diminui os efeitos orais e sistémicos, outrora severos, causados pela radioterapia convencional. Este projeto surge na tentativa de avaliar a toxicidade salivar em doentes submetidos a IMRT, comparando modificações quantitativas e qualitativas da saliva antes e seis meses após o tratamento. Foram recolhidas amostras de saliva não estimulada e estimulada de dez doentes e foram estudados os seguintes parâmetros: fluxo salivar, capacidade-tampão, pH, sódio, potássio, cloro, cálcio, total de proteínas, IgA salivar e amilase. Os resultados obtidos sugerem um padrão de baixa toxicidade causada pelo IMRT. Contudo, outros estudos com maior amostragem têm que ser realizados, de forma a poder corroborar esta hipótese utilizando análise estatística significativa.

Palavras-chave: Cancro de cabeça e pescoço, Radioterapia, Sialoquímica, Sialometria

Abstract

Head and neck cancer incidences are increasing and reaching a point where innovation and actualization of treatment options are a priority in order to reduce the inherent toxic effects. Saliva reflects a multitude of functions which influences our daily life. Radiation as a modality of treatment shows an impact on the quality and quantity of saliva which takes part on decreasing head and neck's patients quality of life. So the evolution in delivery system modalities in radiotherapy becomes crucial in these patients. IMRT has been used to treat them and it shows better results on decreasing oral and systemic toxic effects when compared to the conventional technique. This study is an attempt to evaluate salivary toxicity using the IMRT technique. Ten patients diagnosed with head and neck cancer participated in this investigation and non stimulated and stimulated saliva was collected before and six months after the completion of treatment. The following parameters were analysed: salivary flow, buffer capacity, pH, sodium, potassium, chloride, calcium, total of proteins, salivary IgA and amylase. The results of these study suggest a low toxicity pattern caused by IMRT. However more studies with bigger samples and significant statistics analysis must be done so this hypothesis can be corroborated .

Key-words: Head and neck cancer, Radiotherapy, Sialochemistry, Sialometry

Índice

1 – Introdução	12
1.1 – A Saliva.....	12
1.1.1 - A Composição Salivar.....	13
1.1.1.1 - Os Componentes Inorgânicos da saliva	13
1.1.1.2 - Os Componentes Orgânicos da saliva.....	14
1.1.2 - Imunologia Salivar.....	16
1.1.3 - O Ambiente Microbiológico Oral.....	17
1.1.4 - O Fluxo Salivar	17
1.1.5 - Saliva Total ou Whole Saliva	18
1.1.5.1 - Saliva Estimulada.....	19
1.1.5.2 - Saliva Não Estimulada.....	19
1.1.6 - A Saliva como Meio de Estudo – Porquê?	20
1.1.6.1 - Métodos de Recolha Salivar	21
1.2 - Glândulas Salivares.....	22
1.2.1 - Glândulas Minor	22
1.2.2 - Glândulas Major	22
1.2.2.1 - A Glândula Parótida.....	22
1.2.2.2 - A Glândula Submandibular ou Submaxilar	23
1.2.2.3 - A Glândula Sublingual.....	23
1.2.3 - Constituição Histológica e Funcional das Glândulas Salivares	23
1.2.4 - Secreção Salivar	24
1.3 - Cancro	26
1.3.1 - O Ciclo Celular e a Carcinogénese.....	26
1.3.2 - O Cancro de Cabeça e Pescoço	27
1.3.2.1 - Quanto à localização anatómica.....	28
1.3.2.2 - Quanto ao estadiamento – Classificação TNM.....	29
1.3.2.3 - Incidências em Portugal.....	30
1.3.2.4 - Fatores de Risco	30
1.4 - Tratamentos oncológicos para cancro de cabeça e pescoço	33
1.4.1 - Cirurgia.....	33
1.4.2 - Quimioterapia	33
1.4.3 - Bioterapia.....	35
1.4.3 - Radioterapia	36
1.4.3.1 - Tipos de Radioterapia	37
1.5 - Complicações da Radioterapia.....	40
1.5.1 - Mucosite	41
1.5.4 - Disfagia.....	44
1.5.5 - Hipossalivação e Xerostomia	44
1.5.5.1 - O Mecanismo de Disfunção Salivar	45
1.5.5.2 - Alterações salivares e lesões dentárias.....	46
1.5.5.3 - CTCAE – <i>Common Terminology Criteria for Adverse Effects</i>	47
1.5.5.4 - Modificação da Qualidade de Vida.....	48
1.5.5.5 - A Prevenção e Gestão Sintomática	49
1.5.6 - Alterações Qualitativas da Saliva	53
1.5.7 - Efeitos Ósseos	53

2 - Materiais e Métodos	55
3 - Resultados	60
4 - Discussão	72
5 - Conclusão	80
6 - Referências Bibliográficas	82

Índice de Figuras

Figura 1: Zonas Anatômicas da Cavidade Oral (Adaptada de Patel & Shah, 2005).....	28
Figura 2: Zonas Anatômicas da Faringe (Adaptado de Patel & Shah, 2005).....	28
Figura 3: Zonas Anatômicas da Laringe (Adaptado de Patel & Shah, 2005)	29
Figura 4: <i>Timeline</i> das complicações orais relacionando-as com a duração e dose da radioterapia (Adaptada de Kielbassa, Hinkelbein, Hellwig, & Meyer-Lückel, 2006) ...	40
Figura 5: Demonstração das consequências diretas e indiretas que advêm do tratamento com radioterapia (Adaptada de Kielbassa, Hinkelbein, Hellwig & Meyer-Lücker, 2006)	41
Figura 6: Lesão de mucosite oral na mucosa jugal. De notar a área central ulcerada coberta por pseudomembrana branca, rodeada por uma área eritematosa erosiva (Retirada de Lalla, Saunders & Peterson, 2014).	42
Figura 7: Osteorradionecrose, de notar a exposição óssea após radioterapia devido ao uso de prótese traumática (Retirada de Epstein <i>et al.</i> , 2012).	54
Figura 8: Processo step by step para medição da capacidade-tampão com o CRT-Buffer ® Ivoclar Vivadent	57
Figura 9: Classificação da capacidade-tampão pelo CRT-Buffer ® Ivoclar Vivadent ..	58

Índice de Tabelas

Tabela 1: Papel geral e em ambiente oral de alguns eletrólitos existentes na saliva (Atance, 1996)	13
Tabela 2: Descrição de T, N e M (Adaptado de Wittekind <i>et al.</i> , 2005).....	29
Tabela 3: Classificação de taxas de fluxo de saliva total (Retirada de Falcão, Mota & Pires, 2013).	57
Tabela 4: Procedimentos para doseamento dos componentes salivares.....	59
Tabela 5: Descrição das neoplasias dos doentes em estudo (SOE – sem origem específica).....	60
Tabela 6: Referência do género, idade e patologias associadas	62
Tabela 7: Frequência e percentagem da amostra quanto ao género	62
Tabela 8: Resultados quanto ao fluxo não estimulado e estimulado antes da radioterapia	63
Tabela 9: Frequência e percentagem quanto à classificação de fluxo não estimulado antes da radioterapia	63
Tabela 10: Frequência e percentagem quanto à classificação de fluxo estimulado antes da radioterapia	63
Tabela 11: Análise descritiva dos fluxos salivares antes da radioterapia.....	64
Tabela 12: Resultados do fluxo salivar (não estimulado e estimulado) após radioterapia e a dose de radiação recebida por cada doente	64
Tabela 13: Análise de frequência e percentagem quanto à classificação do fluxo não estimulado após a radioterapia	64
Tabela 14: Análise de frequência e percentagem quanto à classificação do fluxo estimulado após a radioterapia	65
Tabela 15: Análise descritiva dos fluxos salivares após a radioterapia.....	65
Tabela 16: Resultados quanto à capacidade tampão pré e pós-radioterapia.....	66
Tabela 17: Análise de frequência e percentagem quanto à capacidade-tampão pré-radioterapia	66
Tabela 18: Análise de frequência e percentagem quanto à capacidade-tampão pós-radioterapia	66
Tabela 19: Resultados laboratoriais de saliva não estimulada antes da radioterapia	67
Tabela 20: Análise descritiva dos componentes de saliva não estimulada antes da radioterapia para (pH, sódio, potássio e cloro)	67

Tabela 21: Análise descritiva de componentes na saliva não estimulada antes da radioterapia (cálcio, total de proteínas, s-IgA e amilase)	67
Tabela 22: Resultados laboratoriais dos componentes da saliva estimulada antes da radioterapia	68
Tabela 23: Análise descritiva de componentes da saliva estimulada antes da radioterapia (pH, potássio, cloro e cálcio)	68
Tabela 24: Análise descritiva dos componentes da saliva estimulada antes da radioterapia (total de proteínas, s-IgA e amilase)	69
Tabela 25: Resultados laboratoriais dos componentes da saliva não estimulada após a radioterapia	69
Tabela 26: Análise descritiva dos componentes da saliva não estimulada após a radioterapia (pH, sódio, potássio e cloro)	70
Tabela 27: Análise descritiva dos componentes da saliva não estimulada após a radioterapia (cálcio, proteínas, s-IgA e amilase)	70
Tabela 28: Resultados laboratoriais dos componentes da saliva estimulada após a radioterapia	70
Tabela 29: Análise descritiva dos componentes de saliva estimulada após radioterapia (pH, sódio, potássio e cloro)	71
Tabela 30: Análise descritiva dos componentes da saliva estimulada após radioterapia (cálcio, total de proteínas, s-IgA e amilase)	71
Tabela 31: Comparação entre fluxos antes e após radioterapia quanto a saliva não estimulada e estimulada	72
Tabela 32: Comparação entre estudos já realizados sobre o efeito de radioterapia convencional e/ou com IMRT e o seu efeito na xerostomia e fluxo salivar	73
Tabela 33: Comparação entre valores de pH antes e após a radioterapia para saliva não estimulada e estimulada	74
Tabela 34: Comparação entre o total de proteínas antes e após a radioterapia para saliva não estimulada e estimulada	74
Tabela 35: Comparação entre valores de amilase antes e após a radioterapia para saliva não estimulada e estimulada	75
Tabela 36: Comparação entre valores de s-IgA antes e após radioterapia para saliva não estimulada e estimulada	76
Tabela 37: Comparação entre valores de sódio antes e após radioterapia para saliva não estimulada e estimulada	77
Tabela 38: Comparação entre valores de potássio antes e após radioterapia para saliva não estimulada e estimulada	78

Tabela 39: Comparação entre valores de cloro antes e após radioterapia para saliva não estimulada e estimulada.....	78
Tabela 40: Comparação entre valores de cálcio antes e após radioterapia para saliva não estimulada e estimulada.....	79

Lista de Abreviaturas

ADN – Ácido Desoxirribonucleico

AMP-c – Adenosina Monofosfato cíclica

ATP – Adenosina Trifosfato

EGFR – Recetor do fator de crescimento endotelial

Gy - Gray

HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana

HPV – Vírus do Papiloma Humano

HSV – Vírus Herpes Simplex

ORN – Osteorradioneecrose

PRP – Proteínas ricas em prolina

s-IgA – Imunoglobulina-A salivar

RT - Radioterapia

SNA – Sistema Nervoso Autônomo

VEGFR – Recetor do fator de crescimento endotelial vascular

1 – Introdução

1.1 – A Saliva

A saliva é fundamental para a manutenção e preservação da saúde oral (Humphrey & Williamson, 2001), pois oferece proteção na cavidade oral e no trato gastro-intestinal (Vissink, Spijkervet, & Amerongen, 1996).

É produzida por três pares de glândulas salivares major (a sublingual, a submandibular e a parótida), por numerosas glândulas salivares minor (entre quatrocentas a setecentas e cinquenta) localizadas na língua, palato, nasofaringe, e pela mucosa oral e sulco crevicular gengival (Aps & Martens, 2005; Dodds, Johnson & Yeh, 2005; Punyadeera, 2013).

A saliva representa um ultra-filtrado plasmático produzido por células específicas (acinares ou ácinos), que se encontram interligadas com o sistema vascular, permitindo o transporte (ativo ou passivo) de moléculas do sangue para a saliva, como por exemplo proteínas (Punyadeera, 2013). Quando a saliva atinge a cavidade oral está num estado estéril (saliva glandular), mas quando se estende a outras regiões passa deste estado infrutífero a outro com adição de outros componentes, tais como as secreções nasais, fluido crevicular, microorganismos e os seus produtos, passando a ser denominada de saliva mista (Ureña & Pérez, 2005).

A função salivar passa por várias áreas, como a lubrificação, proteção, capacidade tampão, atividade antibacteriana, sensação de gosto e cheiro (Humphrey & Williamson, 2001; Dawes, *et al.*, 2015). Tem um papel na manutenção da homeostase, no ecossistema oral, na orofaringe e na laringe, e na manutenção da integridade do esmalte, pois contém cálcio e fosfato. Também reduz o risco de trauma na mucosa e promove a cicatrização. Participa também no primeiro passo da digestão, ajudando na formação e transporte do bolo alimentar (Epstein *et al.*, 2012). A lubrificação salivar facilita a mastigação, deglutição e fala, uma vez que promove a movimentação da língua e lábios. Também diminui a suscetibilidade à abrasão e remove microorganismos e restos alimentares (Dawes, *et al.*, 2015). A eficácia da função de lubrificação está relacionada com as suas propriedades reológicas, mais propriamente com o seu grau de viscosidade (Waterman, Blom, Holterman, Gravenmade & Mellema, 1988).

1.1.1 - A Composição Salivar

A complexidade composicional da saliva reflete a multitude das suas funções (Andrews & Griffiths, 2001).

O constituinte maioritário da saliva, cerca de 99%, é água. Contudo muitos outros elementos fazem parte da sua composição, tais como: bactérias e os seus metabolitos, células epiteliais, células orais, eritrócitos, leucócitos, debrís alimentares e também componentes do refluxo gástrico e respiratório (Humphrey & Williamson, 2001; Aps & Martens, 2005, Lamont, Burne, Lantz & LeBlanc, 2006).

1.1.1.1 - Os Componentes Inorgânicos da saliva

Estes componentes provêm do soro e passam para os ácinos e ductos estriados através de transporte ativo (Aps & Martens, 2005).

Os eletrólitos existentes na saliva em maior quantidade são o sódio, o potássio e o cloro. Componentes como o cálcio, o magnésio, o fosfato e o bicarbonato apresentam-se em menores concentrações (Atance, 1996). Na seguinte tabela apresenta-se um resumo do papel geral dos eletrólitos e a participação no ambiente oral.

Eletrólitos	Resumo do papel geral e em ambiente oral
<i>Sódio</i>	Necessário para recetores de sensação de gosto salgado
	Participa na condução de impulso nervoso
<i>Potássio</i>	Regula equilíbrio ácido-base
	Regula pressão osmótica intracelular
<i>Cloro</i>	Regula equilíbrio ácido-base
	Mantém pressão osmótica
	Participa na digestão (ácido clorídrico)
<i>Magnésio</i>	Presença nos ossos e dentes (esmalte e dentina)
	Participa na respiração celular e na mobilização de cálcio do osso
<i>Fosfato</i>	Constituinte do osso alveolar e tecidos duros do dente (esmalte, dentina, cimento)
	Sistema tampão da saliva
	Manutenção mineral óssea e dentária
<i>Cálcio</i>	Constituinte ósseo e dentário
<i>Flúor</i>	Proteção contra lesões de cárie e atividade antibacteriana
<i>Bicarbonato</i>	Sistema tampão da saliva

Tabela 1: Papel geral e em ambiente oral de alguns eletrólitos existentes na saliva (Atance, 1996)

O pH salivar varia entre 6 e 7 (Humphrey & Williamson, 2001), podendo alcançar valores de 7.2 a 7.4 e classifica-se como “ligeiramente” alcalino. O aumento no valor de

pH ocorrerá com o aumento da secreção salivar (Lamont *et al.*, 2006; Schipper, Silletti, & Vingerhoeds, 2007). A capacidade-tampão baseia-se nos sistemas tampão existentes na saliva. Estes controlam os níveis ácido-base para que sejam compatíveis com a vida. Na saliva há três sistemas tampão com esta capacidade: o do bicarbonato, o do fosfato e o das proteínas (Cheaib & Lussi, 2013).

Os componentes inorgânicos podem ser influenciados pelo fluxo salivar (Dodds *et al.*, 2005), mas segundo Vissink *et al.*, (1996) não é influenciado pela idade, apesar de alguns autores defenderem que há um aumento de sódio e cloro à medida que se envelhece.

1.1.1.2 - Os Componentes Orgânicos da saliva

Os componentes orgânicos da saliva apresentam diversas funções:

- Anti-microbianas (contra bactérias e fungos) como a lisozima, a lactoferrina, a lactoperoxidase, a IgA salivar, as cistatinas e as histatinas (Aps & Martens, 2005; Dodds *et al.*, 2005);
- Aumento do pH, como a ureia (pela sua conversão em amónia) (Dawes, *et al.*, 2015);
- Participação no processo digestivo, como a α -amilase, a lipase, a proteinase, a ADNase e a ARNase (Aps & Martens, 2005);
- Capacidade “tampão” conferida pelas proteínas (Cheaib & Lussi, 2013).

1.1.1.2.1 - As Proteínas e Glicoproteínas

O conteúdo proteico salivar é diverso, sendo que cada proteína apresenta uma função distinta.

Proteínas Ricas em Prolina (PRP) perfazem um total de 70% do conteúdo proteico salivar da parótida e apresentam três tipos: ácidas, básicas ou básicas glicosiladas (Dodds *et al.*, 2005). Estas proteínas participam na manutenção da supersaturação de cálcio (para formação de película) (Schenkels, Veerman, & Amerongen, 1995). Também estão implicadas na lubrificação e proteção contra substâncias tóxicas (Dodds *et al.*, 2005; Schenkels *et al.*, 1995). Outras funções destas proteínas são a sua capacidade de ligação a microorganismos nas superfícies orais e a manutenção da concentração de cálcio e fosfato (Atance, 1996; Dodds *et al.*, 2005).

Estaterrina permite a criação de um ambiente supersaturado salivar, para que iões como o cálcio e o fosfato sejam suficientes para a remineralização dentária (Humphrey & Williamson, 2001; Dodds *et al.*, 2005), inibindo a sua cristalização. Também participa na inibição do crescimento de bactérias anaeróbias (Dawes, *et al.*, 2015)

Lactoferrina remove o ferro, inibindo o metabolismo de diversos microorganismos (Dawes, *et al.*, 2015).

Histatinas ou proteínas ricas em histidina, existem em todas as glândulas maior, e apresentam uma função anti-bacteriana, mais especificamente contra *Streptococcus mutans* e *Porphyromonas gingivalis*, e também anti-fúngicas por inibição do crescimento e germinação de *Candida albicans* (Schenkels, *et al.*, 1995; Andrews & Griffiths, 2001; Dodds *et al.*, 2005; Lamont *et al.*, 2006).

Mucinas são os principais componentes das glândulas sublingual e da submandibular, mas também são secretados por glândulas minor. São proteínas glicosiladas de forte adesividade e alta viscosidade. A sua função é caracterizada pela capacidade de lubrificação, prevenção da desidratação, bem como a aglutinação a bactérias (anti-bacteriana) (Atance, 1996; Humphrey & Williamson, 2001; Dodds *et al.*, 2005; Lamont *et al.*, 2006). Também têm ação anti-viral (Aps & Martens, 2005). As mucinas são os únicos componentes orgânicos que se reduzem com a idade (Vissink *et al.*, 1996), podendo conduzir a mudanças reológicas salivares, pois são responsáveis pela característica visco-elástica da saliva (Schenkels *et al.*, 1995).

Cistatinas podem estar relacionadas com a atividade inflamatória, que ocorre em casos de gengivite ou periodontite, e com a formação de película adquirida (Schenkels *et al.*, 1995). Também são inibidoras de proteases produzidas por microorganismos, impedindo a utilização de proteínas salivares (Dawes, *et al.*, 2015).

Lisozima é reconhecida pela sua capacidade anti-microbiana. Esta proteína tem capacidade de se ligar às bactérias, rompendo a sua membrana celular, e facilitando o *clearance* salivar (Schenkels *et al.*, 1995; Ureña & Pérez, 2005; Lamont *et al.*, 2006).

Amilase Salivar (α -amilase) é constituída por 496 aminoácidos e constitui 10 a 20% do conteúdo proteico salivar. Está envolvida no *clearance* bacteriano devido à sua interação com *Streptococcus* e também apresenta capacidade de ligação à hidroxiapatite das superfícies dentárias (Lamont *et al.*, 2006; Arhakis, Karagiannis & Kalfas, 2013).

Esta enzima tem como função a quebra de ligações glicosídeas $\alpha(1,4)$, degradando inicialmente o amido e o glicogénio (Atance, 1996), originando maltose, maltotriose, maltotetrose e outros oligossacáridos (Dawes, *et al.*, 2015). Facilita a dissolução de restos alimentares que contenham amido e permite a formação de um bolo alimentar coeso (Dawes, *et al.*, 2015). É considerada a principal proteína responsável pela capacida-tampão (Cheaib & Lussi, 2013).

A amilase é maioritariamente secretada pelas parótidas (Ureña & Pérez, 2005). Pensa-se que a sua secreção está relacionada com condições de stress, dado que a sua concentração aumenta em situações de stress físico (correr, andar de bicicleta) ou condições de stress psicológico, uma vez que está relacionada com o aumento de catecolaminas (Arhakis *et al.*, 2013).

A idade influencia a atividade da α -amilase, através de uma redução de cerca de 62%, na saliva não estimulada (Arhakis *et al.*, 2013).

Peroxidase salivar e Mieloperoxidase utilizam peróxido de hidrogénio para produzir hipotiocianato, que é um potente oxidante e agente antibacteriano (Dawes, *et al.*, 2015).

Outras Enzimas como a: catalase, hexoquinase, fosfatase ácida e alcalina, urease, esterase, peptidase, pirofosfatase, aldolase e desidrogenase succínio também fazem parte da saliva (Atance, 1996).

1.1.2 - Imunologia Salivar

Existem vários componentes imunológicos na saliva como a Imunoglobulina M (IgM), Imunoglobulina G (IgG) e a Imunoglobulina A (IgA) (Humphrey & Williamson, 2001). A IgA representa cerca de 60% das imunoglobulinas totais da saliva (Lamont, *et al.*, 2006; Cheaib & Lussi, 2013).

A imunoglobulina A é sintetizada por células plasmáticas (linfócitos B) existentes nas células glandulares. Esta liga-se a um recetor polimérico de imunoglobulinas (pIgR), localizado na membrana basolateral dos ácinos e sistema ductal, onde sofre endocitose. Após a entrada na célula desloca-se até à membrana apical onde se separa do componente secretório do recetor, sendo excretada como s-IgA (Schenkels *et al.*, 1995; Carpenter, 2013).

Este anticorpo faz parte do sistema imune adaptativo e é específico para determinados antígenos (Humphrey & Williamson, 2001). Tem como função controlar a colonização

de potenciais patogénicos, pois tem capacidade de inibir a adesão de microorganismos (bactérias e fungos) (Himi *et al.*, 1997; Andrews & Griffiths, 2001; Lamont *et al.*, 2006) e também contra antígenos virais, enzimáticos ou toxinas (Schenkels *et al.*, 1995).

1.1.3 - O Ambiente Microbiológico Oral

A variedade e a complexidade do ambiente microbiológico oral deve-se ao facto de existirem “micro-climas” em diversos locais da cavidade oral, que permitem a colonização, multiplicação e sobrevivência de um variadíssimo número de microorganismos. Diversos locais da cavidade oral oferecem condições únicas para o desenvolvimento de certos microorganismos, como é o caso do dorso da língua, do pavimento da boca, do palato duro, da mucosa vestibular e bucal. A existência de áreas específicas de microorganismos na cavidade oral deve-se a vários fatores como flutuações no ambiente oral (pH, temperatura, quantidade de oxigénio, acesso à ação *washout* da saliva) e a mudanças na quantidade e qualidade de saliva (fluxo e resposta imune) (Lamont *et al.*, 2006). A cavidade oral apresenta uma gama variada de microorganismos da flora normal, como bactérias, fungos, vírus, *archae* e protozoários. O microbioma instala-se por transmissão vertical à nascença e ao longo da vida interage com as alterações físicas e químicas que vão ocorrendo diariamente (Zaura, Nicu, Krom, & Keijser, 2014). Em doentes com patologias específicas observa-se uma propensão para o crescimento de certas espécies, como é no caso de Síndrome de Sjögren ou de xerostomia (Lamont *et al.*, 2006). Na tentativa de identificar as várias espécies de microorganismos presentes na microbiota oral normal o *Human Microbiome Project* (HMP) tem realizado vários estudos interessantes e já tem uma base de dados variada, a qual pode ser consultada no seu website.

1.1.4 - O Fluxo Salivar

A hipossalivação (redução do fluxo salivar) é comum hoje em dia, ocorrendo em, aproximadamente, 20% da população (Falcão, Mota, Pires, & Bezerra, 2013).

Um adulto saudável produz cerca de 500 a 1500 ml de saliva por dia, aproximadamente 0,5ml/min. Tanto a sua componente quantitativa, como qualitativa é afetada por condições fisiológicas e patológicas. A saliva pode sofrer alterações devido ao cheiro, sabor, à mastigação, idade, saúde oral, hormonas e toma de fármacos (Aps & Martens, 2005; Punyadeera, 2013). O fluxo salivar pode ainda ser afectado por fatores como

stress, depressão, consumo de álcool, intensidade de exercício, cancro, radioterapia e consoante a estimulação (Aps & Martens, 2005; Arhakis *et al.*, 2013).

A variabilidade do fluxo é interpessoal (Humphrey & Williamson, 2001), ou seja existem variações entre indivíduos saudáveis.

Embora artigos mais recentes ditem que a idade é um fator que poderá alterar o fluxo salivar, Vissink *et al.* (1996) defende outra ideia. Estes autores sugerem que em idosos sem doenças sistémicas, sem tomas medicamentosas e sem terem realizado tratamentos oncológicos não ocorrem alterações no fluxo salivar, nem de saliva estimulada ou não estimulada, mostrando apenas uma redução no fluxo das glândulas menor.

Evidências sugerem que a concentração de proteínas salivares pode modificar-se com a mastigação (Arhakis *et al.*, 2013), tal como comprovado por Neyraud, Bult, & Dransfield (2009) num estudo no qual conseguiram correlacionar o fluxo com a concentração proteica e pH (com o aumento do fluxo salivar, a concentração proteica diminui e o pH aumenta).

Durante o dia e durante o ano o fluxo salivar atinge picos mínimos e máximos, chamados ritmos circadianos e circanuais. O pico circadiano mínimo ocorre durante o sono, e o máximo ao fim da tarde. O pico circanual mínimo ocorre durante o verão e o máximo durante o inverno (Humphrey & Williamson, 2001; Dawes, *et al.*, 2015).

Tanto o volume salivar como as concentrações eletrolíticas e proteicas sofrem influência do ritmo circadiano e do estímulo (Humphrey & Williamson, 2001; Aps & Martens, 2005).

1.1.5 - Saliva Total ou Whole Saliva

Representa uma mistura de fluidos que provêm de glândulas salivares e do fluído crevicular/gengival. Contém células epiteliais orais, debris alimentares e microorganismos (bactérias, vírus, fungos e endotoxinas bacterianas). Pode também apresentar expetorações nasais e brônquicas, soro ou sangue de feridas orais (Humphrey & Williamson, 2001; Cuevas-Córdoba & Santiago-García, 2014).

A saliva total engloba dois tipos de saliva, a estimulada e a não estimulada, que se forem estudados separadamente poderão revelar informações mais precisas quanto ao fluxo salivar (Humphrey & Williamson, 2001; Punyadeera, 2013).

1.1.5.1 - Saliva Estimulada

Representa cerca de 80 a 90% da saliva secretada diariamente (Humphrey & Williamson, 2001). Cerca de 50% deste tipo de saliva é produzida pelas glândulas parótidas (Arhakis *et al.*, 2013).

A estimulação salivar pode ter diversas origens com: os estímulos mecânicos (mastigação), os estímulos gustatórios (estímulo ácido ou doce e olfativo), fatores psicológicos, origem medicamentosa ou devido a doenças locais/sistêmicas que afetem as glândulas (Humphrey & Williamson, 2001). A estimulação mecânica ou mastigatória aumenta o fluxo parotidiano devido a *inputs* do ligamento periodontal, tecido gengival e da língua (Neyraud *et al.*, 2009)

Quanto a valores de fluxo de saliva estimulada (ml/min) há algumas diferenças entre autores:

- Humphrey & Williamson consideram que os valores normais se situam entre 0,2ml/min e 7ml/min.
- Falcão *et al.* (2013) consideram:
 - Fluxo normal se o valor for maior do que 1ml/min;
 - Fluxo baixo se entre 0,7ml/min e 0,1ml/min;
 - Fluxo muito baixo (hipossalivação) se menor do que 0,7ml/min.

A resposta à estimulação é diferente entre glândulas e o próprio conteúdo proteico de cada glândula também difere. A velocidade para realizar trocas eletrolíticas também aumenta, havendo menos tempo para a sua realização. Portanto o conteúdo da saliva estimulada modifica-se (Humphrey & Williamson, 2001; Arhakis *et al.*, 2013). Neste tipo de saliva a concentração de bicarbonato também é diferente (é mais alta) conferindo maior capacidade “tampão” (Aps & Martens, 2005)

1.1.5.2 - Saliva Não Estimulada

Cerca de 65% do contributo secretório desta saliva provém das glândulas submandibulares (Humphrey & Williamson, 2001). Este fluxo contínuo de saliva ocorre mesmo em repouso (Carpenter, 2013) e é importante na prevenção de infecção retrógrada nos ductos salivares (Dawes, *et al.*, 2015).

Este tipo de saliva também é importante para o reconhecimento de sensações gustatórias, pois contém glucose, bicarbonato e ureia em concentrações baixas que facilitam a sua sensação (Dawes, *et al.*, 2015)

O uso de medicamentos, como anti-arrítmicos, diuréticos, anti-hipertensores e anti-depressivos tem um maior impacto neste tipo de saliva (Vissink *et al.*, 1996).

Quanto a este tipo de saliva também os valores divergem entre autores:

- Carpenter (2013) considera um fluxo normal com valores de 0,5ml/min.
- Humphrey & Williamson (2001) entre valores de 0,3ml/min a 0,1ml/min.
- Falcão *et al.* (2013) consideram:
 - Fluxo normal se maior do que 0,25ml/min,
 - Fluxo baixo se entre 0,1ml/min e 0,25ml/min
 - Fluxo muito baixo se menor do que 0,1ml/min.

A capacidade-tampão deste tipo de saliva é limitada, porém pensa-se que tem um papel importante no processo de remineralização (Cheaib & Lussi, 2013).

1.1.6 - A Saliva como Meio de Estudo – Porquê?

A simplicidade de recolha e a vasta informação que contém são as principais razões pelas quais, hoje em dia, a saliva é utilizada para diagnóstico, prognóstico e monitorização de doenças, tanto orais como sistémicas (Malamud, 2011).

O avanço da biologia molecular e das tecnologias em áreas que estudam e quantificam moléculas biológicas (OMICS) permitiram a descoberta de vários biomarcadores passíveis de serem utilizados no diagnóstico de várias doenças sistémicas, como as doenças cardiovasculares, doenças oncológicas (como o carcinoma de células escamosas), diabetes, auto-imunes ou doenças infecciosas (fúngicas, virais ou bacterianas) (Malamud, 2011; Cuevas-Córdoba & Santiago-García, 2014).

A simplicidade de recolha, armazenamento e processamento são vantagens associadas ao estudo da saliva em contraposição com estudos que recorrem a recolhas de sangue (Cuevas-Córdoba & Santiago-García, 2014).

1.1.6.1 - Métodos de Recolha Salivar

A recolha salivar, tendo em vista a sua investigação, deve obrigar a um método estandardizado dada a sua variabilidade composicional. A recolha de saliva total – ou *whole saliva* – é a que mais problemas apresenta devido à dificuldade de distinção entre o componente salivar e o componente bacteriano (Schipper *et al.*, 2007).

A recolha pode ser realizada por (Schipper *et al.*, 2007; Cuevas-Córdoba & Santiago-García, 2014):

- Drenagem passiva;
- Expulsão ativa (aumenta o número de microorganismos);
- Mastigação de um material absorvente;
- Extração de secreções puras diretamente da glândula.

1.2 - Glândulas Salivares

As glândulas salivares classificam-se consoante o seu volume ou dimensão em glândulas *major* ou glândulas *minor* (Rouvière & Delmas, 1988).

1.2.1 - Glândulas Minor

Constituídas pelas palatinas (localizadas na abóboda palatina), as labiais (localizadas na face posterior dos lábios), as jugais (localizadas na mucosa jugal), as molares (que se localizam perto do canal de *Stenon*) e as linguais. Estas últimas encontram-se anexas a papilas caliciformes ou a papilas foliáceas, na porção posterior lingual (glândulas de *Weber*) e na porção inferior e anterior lingual (glândulas de *Blandin* ou *Nühn*) (Rouvière & Delmas, 1988). São responsáveis por 10% da secreção e têm um papel importante na lubrificação da cavidade oral (secreções ricas em mucinas) (Carpenter, 2013).

1.2.2 - Glândulas Major

Constituídas pela parótida, submandibular ou submaxilar e a sublingual (Rouvière & Delmas, 1988). As glândulas *major* produzem cerca de 70 a 80% do fluxo salivar (Andrews & Griffiths, 2001). As maiores contribuições são dadas pela glândula parótida e pela submandibular (Bhide, Miah, Harrington, Newbold & Nutting 2009).

1.2.2.1 - A Glândula Parótida

Encontra-se na fossa parotídea, apresentando uma forma prismática triangular. Localiza-se posteriormente ao ramo ascendente mandibular, inferiormente ao canal auditivo externo e anteriormente às apófises mastóide e estilóide e aos músculos aí inseridos. A drenagem salivar da parótida realiza-se pelo canal/orifício de *Stenon*, que se localiza perto do primeiro ou segundo molar superior (Rouvière & Delmas, 1988).

Esta glândula é a principal responsável pela secreção de fluxo estimulado (Andrews & Griffiths, 2001). O componente salivar maioritário é a amilase e as PRP e os componentes *minor* são a lisozima, a lactoferrina, a peroxidase e a IgA salivar (Dodds *et al.*, 2005; Carpenter, 2013).

1.2.2.2 - A Glândula Submandibular ou Submaxilar

Encontra-se na fossa submaxilar. Localiza-se na porção lateral da região supra-hioideia, ocupando uma depressão que se situa, por um lado, entre a superfície interna mandibular e os músculos supra-hioideus, e por outro entre a face lateral da base da língua e a faringe. A drenagem é realizada pelo canal/orifício de *Wharton*, que abre no *ostium* umbilical (Rouvière & Delmas, 1988).

As glândulas submandibulares produzem saliva rica em cálcio e com pH alcalino, a sua secreção faz-se por via de um ducto longo, com duas curvaturas acentuadas. O *ostium* do ducto é pequeno e acima do canal, pelo que a secreção é realizada contra a ação da gravidade. Por todos estes motivos esta glândula é a mais propensa a sialolitíase (Hupp, Ellis III, & Tucker, 2009).

1.2.2.3 - A Glândula Sublingual

Localiza-se no pavimento da boca, inferiormente à mucosa do sulco alvéolo-lingual. Sendo uma aglomeração de várias glândulas pode excretar a saliva por cerca de quinze a trinta orifícios/canais. Sendo que o mais volumoso se denomina *Rivinus* ou *Bartholin*, que abre no vértice da carúncula sublingual (Rouvière & Delmas, 1988).

1.2.3 - Constituição Histológica e Funcional das Glândulas Salivares

As glândulas salivares são constituídas por vários tipos de células: as células acinares ou ácinos, as células do sistema ductal e as células mioepiteliais (Humphrey & Williamson, 2001; Bhide *et al.*, 2009).

Os ácinos são responsáveis pela síntese e secreção das proteínas salivares e em cada glândula são especializados para o tipo de secreção (Proctor & Carpenter, 2007), ou seja definem o tipo de secreção salivar consoante a glândula (Humphrey & Williamson, 2001). Nas parótidas os ácinos são serosos, pelo que as suas secreções são maioritariamente proteicas e aquosas, nas sublinguais secretam produtos muito viscosos (mucinas), pois são constituídas por ácinos mucosos e nas submandibulares são constituídas por ácinos serosos e mucosos, que produzem tanto proteínas como mucinas (Andrews & Griffiths, 2001; Tucker, 2007).

Com o avançar da idade nota-se um aumento de tecido adiposo e fibroso, que se reflete também nas glândulas parótida e submandibular. Estas alterações fazem com que o volume acinar diminua (Vissink *et al.*, 1996).

O sistema ductal é constituído por vários tipos de células (Humphrey & Williamson, 2001):

- Células intercaladas que ligam as secreções acinares com a restante glândula;
- Células estriadas que estão envolvidas na regulação dos eletrólitos, sendo responsáveis pela reabsorção do sódio;
- Células excretórias que também reabsorvem o sódio para além de excretarem potássio.

As células mioepiteliais localizam-se em volta dos ácinos e, quando neuronalmente estimuladas, contraem e permitem a drenagem de fluidos que se vão acumulando nos ácinos (Humphrey & Williamson, 2001). Posteriormente estes fluídos seguem para os ductos intercalados e depois para os ductos estriados (Tucker, 2007).

1.2.4 - Secreção Salivar

É um processo contínuo e consciente mas também é regulada por certos estímulos, como mastigatórios ou gustatórios (Carpenter, 2013).

A regulação é realizada pelo Sistema Nervoso Autónomo (SNA) e dependendo do estímulo nervoso, a constituição e o volume salivar modifica-se (Aps & Martens, 2005; Carpenter, 2013). O SNA é constituído pelo:

- Sistema Nervoso Simpático cujo estímulo liberta noradrenalina, responsável pela diminuição do fluxo salivar e aumento da secreção proteica salivar;
- Sistema Nervoso Parassimpático cujo estímulo liberta acetilcolina, responsável pelo aumento do fluxo salivar e diminuição da secreção proteica (Carpenter, 2013).

Destes dois, este último parece ter maior importância.

Os recetores aferentes e nervosos transmitem os impulsos que advêm da sensação gustatória e da atividade muscular até ao centro salivar (*medula oblongata*) que transmite um reflexo eferente através de nervos simpáticos e parassimpáticos que inervam os vasos sanguíneos e os ácinos glandulares, estimulando a secreção salivar (Lafaurie, *et al.*, 2009).

O processo inicia-se nos ácinos e inclui as seguintes fases:

- A estimulação de recetores muscarínicos promove o aumento do cálcio intracelular e induz o transporte ativo (com gasto de ATP) dos eletrólitos, como o sódio e o cloro, para dentro das células acinares (Carpenter, 2013).
- Movimento trans-epitelial de água pelos canais de aquaporina e em volta das *tight junctions* (Dodds *et al.*, 2005; Carpenter, 2013).
- Por estimulação simpática de recetores α e β (maioritariamente), via AMP-c, os grânulos secretórios proteicos fundem-se com a membrana apical celular, sendo libertados (Carpenter, 2013).
- A s-IgA chega a estas células por via de um recetor (recetor polimérico de imunoglobulinas) (Carpenter, 2013).

Forma-se assim um fluído isotónico ou saliva primária, semelhante ao plasma (Carpenter, 2013).

Na passagem pelo sistema ductal:

- Ocorre a reabsorção de cloreto de sódio e a adição de potássio e bicarbonato à saliva primária. (Proctor & Carpenter, 2007; Carpenter, 2013).

Na presença de saliva estimulada iões como o cloro (Cl-) e o sódio (Na+) parecem estar aumentados. Não ocorre passagem de água, pois os ductos estriados são impermeáveis (Carpenter, 2013)

A composição do fluído primário é modificada, originando-se um fluido hipotónico, que é excretado para a cavidade oral (Carpenter, 2013).

1.3 - Cancro

Cancro é um termo genérico que identifica um grupo diferenciado de doenças que afetam várias partes do corpo humano (WHO), pelo que estão descritos mais de cem tipos de cancro (Pecorino, 2012). Apesar de todos os cancros serem diferentes e terem as suas próprias características, todos têm uma característica em comum: a total anarquia do crescimento celular. As células crescem além dos seus próprios limites e podem invadir órgãos distantes ao local primário de origem (metastização) (WHO; Pecorino, 2012).

Anteriormente à descoberta da estrutura do ADN por Watson e Crick, em 1950, vivia-se numa “Era Anatómica” de tratamento, que se baseava apenas na identificação do local-alvo lesado e com o tratamento adequado (fosse cirurgia, radioterapia ou quimioterapia) o doente era eventualmente curado. Após a descoberta do ADN, iniciou-se uma nova era, a “Era Biológica”. Esta linha de pensamento passava pela compreensão dos mecanismos moleculares e da biologia tumoral da transformação maligna, da progressão tumoral e da resposta do doente à terapia utilizada (Bose, Brockton, & Dort, 2013).

1.3.1 - O Ciclo Celular e a Carcinogénese

A proliferação celular consiste na reprodução do seu material genético e de todos os seus outros componentes. Esta multiplicação ocorre durante o ciclo celular, que tem quatro fases: G1, S, G2 e M. Este processo é regulado por várias proteínas, incluindo as ciclinas (Jones, 2004) e pode ser interrompido caso sejam detetadas anomalias (O'Dwyen & Frattini, 2009).

O gene *p53* (por exemplo), responsável pela reparação de anomalias e indutor de apoptose, induz a produção de alguns genes que codificam as ciclinas. Se existirem mutações em proteínas reguladoras haverá instabilidade genética e transformação maligna (Jones, 2004; O'Dwyen & Frattini, 2009). A malignização das células baseia-se não só na carga genética individual (hereditariedade), mas também nas mutações causadas por carcinogénicos que levam à alteração do ADN (WHO; Pecorino, 2012).

Segundo Olshan (2010) a perda de genes reguladores do ciclo leva à perda de integridade da função de *checkpoints* (pontos de controlo antes de ocorrer a proliferação celular). Irá ocorrer a progressão de ciclos não controlados, levando à proliferação, ao invés da reparação ou de indução de apoptose.

No ADN existem genes normais suscetíveis a alteração por mutações, translocações, amplificações ou desregulação na sua expressão (proto-oncogenes). Após essa alteração denominam-se oncogenes. Estes promovem a divisão e crescimento celular descontrolado através da produção de fatores de transcrição, de reguladores do ciclo celular ou de fatores de crescimento (Jones, 2004; Hunter, Parkinson, & Thakker, 2011).

A carcinogénese é um processo onde alterações genéticas e epigenéticas levam a que células normais malignizem, tanto por instabilidade genética, pelo ganho ou perda de cromossomas ou dos seus segmentos. Também poderá ocorrer por ação de agentes infecciosos ou por alterações no ciclo celular (Hunter *et al.*, 2011).

Este processo assenta sobretudo na sobre-expressão de oncogenes e/ou na inibição da expressão de genes supressores tumorais, estes últimos reguladores da apoptose e diferenciação celular (Jones, 2004).

Os carcinogénicos são agentes externos que se apresentam em três grupos distintos, segundo a OMS: agentes físicos, como as radiações ionizantes (UV-A e UV-B), que causam danos no ADN, por radiólise; agentes químicos, como por exemplo os componentes do tabaco e o arsénico que é contaminante da água; biológicos/infecciosos, como os vírus do Papiloma Humano do tipo 16 e 18, o *Epstein-Barr*, o da Hepatite B, o do Herpes Humano, o HIV, assim como parasitas e bactérias como por exemplo a *Helicobacter Pylori* (WHO; Pecorino, 2012).

1.3.2 - O Cancro de Cabeça e Pescoço

O cancro de cabeça e pescoço é o sexto tipo de cancro mais comum e estima-se que a nível mundial apareçam 650.000 novos casos todos os anos (Argiris, Karamouzis, Raben & Ferris, 2008). Em Portugal surgiram 1580 novos casos (RON, 2008).

O cancro de cabeça e pescoço engloba todas as neoplasias malignas epiteliais. Pode iniciar-se na cavidade nasal, nos seios paranasais, como os maxilares, os etmoidais, os frontais e os esfenoidais. Também se pode iniciar na cavidade oral, nas glândulas salivares, na faringe, na laringe e na tiróide (Patel & Shah, 2005; Argiris *et al.*, 2008).

Pode ser classificado quanto ao estadiamento e quanto à sua localização/origem anatómica (Olshan, 2010).

1.3.2.1 - Quanto à localização anatômica

O cancro oral poderá ocorrer: na mucosa labial, no pavimento da boca, na língua oral (dois terços anteriores), na mucosa bucal, na gengiva, no rebordo alveolar, no palato duro e no triângulo retromolar (Huang & O'Sullivan, 2013; Wittekind, Greene, Hutter, Klimpfinger, & Sobin, 2005). Segundo Monteiro *et al.*, (2013) a incidência deste cancro tem vindo a aumentar no sexo feminino, em Portugal.

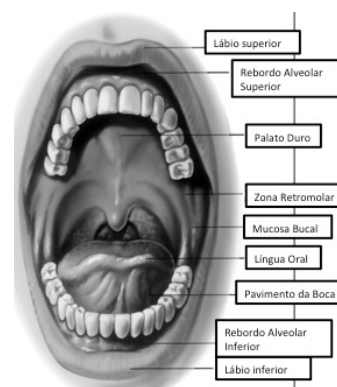


Figura 1: Zonas Anatômicas da Cavidade Oral (Adaptada de Patel & Shah, 2005)

O cancro da faringe pode ocorrer nas suas três porções (Rouvière & Delmas, 1988; Wittekind *et al.*, 2005; Olshan, 2010; Monteiro, *et al.*, 2013):

- ✓ Na nasofaringe (continuidade da cavidade nasal, através das coanas) podem ocorrer na face superior do véu do palato, entre este e a abóboda palatina da base do crânio e na fosseta de Rosenmüller.

- Esta fosseta representa o principal local de origem de carcinomas.

- ✓ Na orofaringe (do palato mole até à epiglote) podem ocorrer no terço posterior da língua, no palato mole, nas amígdalas palatinas, na face inferior do véu do palato, na úvula e posteriormente na porção faríngea.

- Em Portugal, a incidência deste cancro tem vindo a aumentar no sexo masculino.

- ✓ Na hipofaringe (porção inferior, desde a epiglote até à entrada do esófago) pode ocorrer na junção faringo-esofágica, nas dobras aero-epliglóticas do *additus* laríngeo, nos seios piriformes e ainda desde o limite superior do hióide ao bordo inferior da cartilagem cricóide.

- Aqui os seios piriformes representam o local mais comum de origem de neoplasias.

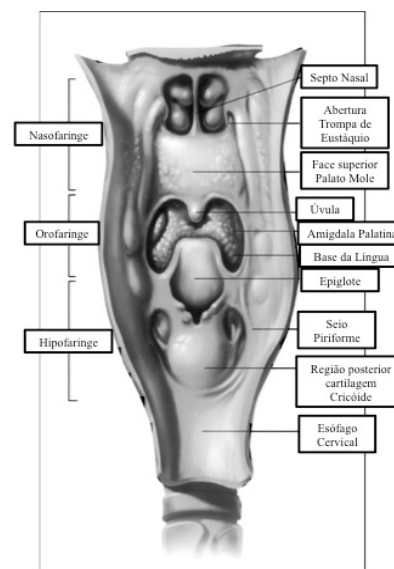


Figura 2: Zonas Anatômicas da Faringe (Adaptado de Patel & Shah, 2005)

As neoplasias que afetam a laringe podem ocorrer em três espaços anatómicos (Rouvière & Delmas, 1988; Wittekind *et al.*, 2005; Olshan, 2010):

- ✓ Na zona supraglótica encontra-se a epiglote, as dobras aero-epiglóticas, as cartilagens aritnoideias e as bandas ventriculares ou cordas vocais falsas.
 - Aqui ocorre um terço do cancro laríngeo.
- ✓ Na zona da glote, onde localizam-se as cordas vocais, é o local onde as neoplasias ocorrem com mais frequência.
- ✓ A zona subglótica (abaixo das cordas vocais) é o local onde o prognóstico é mais pobre.

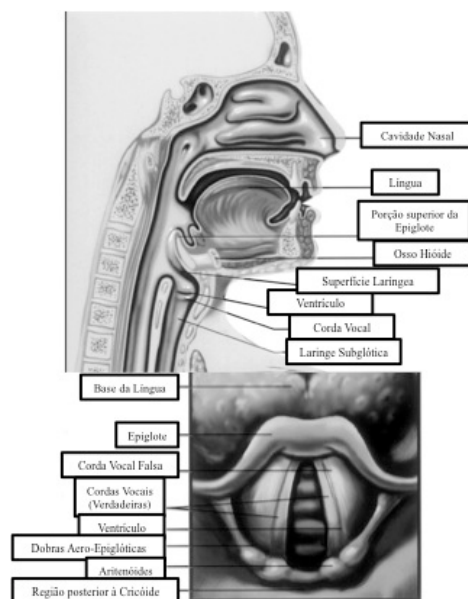


Figura 3: Zonas Anatómicas da Laringe
(Adaptado de Patel & Shah, 2005)

1.3.2.2 - Quanto ao estadiamento – Classificação TNM

O estadiamento é-nos dado pela combinação de três elementos (T, N e M) e pode ir de estadio I a IV. O T refere-se a tumor primário e caracteriza o tamanho do tumor e a sua localização relativamente a estruturas adjacentes; o N refere-se a nódulos regionais afetados e caracteriza a quantidade, o tamanho e a localização (ipsilateral e/ou contralateral) relativamente à localização primária do tumor; o M refere-se a metástases distantes e classifica a existência ou não de locais distantes também afetados (Olshan, 2010).

Tx	T0	Tis	T1-T4	Nx	N0	N1-N4	M0	M1
Tumor não pode ser avaliado	Sem evidências de tumor primário	Carcinoma <i>in situ</i>	Tumor aumenta o tamanho e ou extensão	Gânglios não podem ser avaliados	Sem metástases ganglionares	Aumento do envolvimento ganglionar	Sem metástases	Com metástases

Tabela 2: Descrição de T, N e M (Adaptado de Wittekind *et al.*, 2005)

Em anexo (1, 2, 3 e 4) a descrição TNM das neoplasias dos doentes que participaram no estudo (quanto à sua localização anatómica).

O tipo histológico mais frequente é o carcinoma de células escamosas. Esta ainda contém variantes como: a verrucosa, a basalóide, a de células fusiformes ou os adenocarcinomas (Argiris *et al.*, 2008).

Quanto à metastização, normalmente ocorre para os pulmões, nódulos linfáticos do pescoço, fígado ou osso (Argiris *et al.*, 2008) e parece estar relacionada com a hipóxia tumoral (Hunter *et al.*, 2011; Bose *et al.*, 2013).

1.3.2.3 - Incidências em Portugal

Em 2008 (ROR Centro e Sul), o cancro oral e orofaríngeo foi considerado o sexto tipo de cancro mais comum no sexo masculino e o décimo sexto no sexo feminino (Monteiro *et al.*, 2013).

Monteiro *et al.* (2013) num estudo sobre a incidência de cancro do lábio, oral e orofaríngeo em Portugal (dados referentes ao ano de 1998 a 2007) reportam:

- Incidência aumentada no sexo masculino;
- 81,7% das neoplasias classificadas como carcinoma de células escamosas;
- A incidência foi maior em idade superior a 45 anos;
- Localizações mais prevalentes (ordem decrescente) foram: língua, orofaringe e lábios (sendo que a incidência de cancro do lábio tem vindo a decrescer).

1.3.2.4 - Fatores de Risco

Como agentes de risco que influenciam a carcinogénese consideram-se: o estilo de vida, situações de imunossupressão e a idade como fatores (Pecorino, 2012; Scully, 2012). A OMS considera a idade como principal fator para o desenvolvimento do cancro, dado que a sua incidência aumenta com o avançar da idade, devido à diminuição da efetividade dos mecanismos de reparação celular.

Os principais fatores de risco do carcinoma de células escamosas são o tabaco e o álcool. Em cerca de 75 a 80% dos casos deste tipo de cancro existe uma relação com a exposição a tabaco (Argiris *et al.*, 2008; Bose *et al.*, 2013). Os fumadores têm dez vezes

mais probabilidade de contrair cancro de cabeça e pescoço do que os não fumadores. E ainda existe uma sinergia entre o consumo de tabaco e de álcool (Bose *et al.*, 2013).

Relativamente aos fatores genéticos (Olshan, 2010):

- A agregação de casos familiares de cancro de cabeça e pescoço pode sugerir predisposição genética;
- A existência de polimorfismos em genes que codificam para as enzimas responsáveis pela ativação ou destoxificação de produtos carcinogénicos oriundos do tabaco também podem influenciar;
- A existência de polimorfismos em genes responsáveis pela reparação do ADN e pela regulação do ciclo celular, como o gene *p27*, o gene *p53* e o gene *Rb* também mostram influência.

O HPV (vírus da família *Papillomaviridae*) é um dos vírus de transmissão eminentemente sexual, que desde os trabalhos de Harald Zur Hausen se sabe estar relacionado com o desenvolvimento de várias neoplasias (colo do útero, vagina, vulva, pénis e orofaringe). Infeta células epiteliais através das suas membranas basais e associa-se à transformação oncogénica devido aos seus produtos virais, as proteínas E5, E6 e E7 que atuam em diferentes funções celulares (Olshan, 2010; Bose *et al.*, 2013; Betiol, Villa, & Schiero, 2013):

- A proteína E5 modula a expressão de um recetor ligado à proliferação celular (EGFR), aumentando-a;
- A proteína E6 regula a produção da proteína *p53*;
- A proteína E7 inibe supressores tumorais, induzindo a proliferação celular.

Os casos de infeção por HPV têm vindo a aumentar em jovens adultos sobretudo devido à alteração do comportamento sexual (aumento do comportamento sexual de alto risco) (Betiol, Villa, & Schiero, 2013). Também o número de casos de cancro de cabeça e pescoço associados à infeção por HPV aumentou, com maior incidência nos homens (Bose *et al.*, 2013). Estima-se que cerca de 25% dos carcinomas de células escamosas

na região de cabeça e pescoço estão de algum modo associados ao HPV (Betiol, Villa, & Schiero, 2013), se bem que não se possa afirmar a certeza da correlação etiológica.

O cancro de cabeça e pescoço associado ao HPV é considerado uma entidade clínica distinta com melhor prognóstico do que quando é associado ao tabaco e álcool. Quando associado ao HPV os doentes parecem responder melhor às terapias (quimioterapia e radioterapia) (Betiol, Villa, & Schiero, 2013). O tipo HPV16 é o mais prevalente em cancro de cabeça e pescoço e apresenta-se especialmente presente na região da orofaringe (Betiol, Villa, & Schiero, 2013).

A vacinação está disponível para a população e está comprovado que previne cancro anal, vaginal e vulvar. Porém existe falta de evidência sobre a prevenção das consequências da infeção pelo HPV16 na região de cabeça e pescoço, a nível oncológico (Betiol, Villa, & Schiero, 2013). Essencialmente, sendo o cancro de cabeça e pescoço uma entidade multifatorial, tem sido impossível assumir que a positividade para um tipo de HPV seja determinante na oncogénese desse mesmo tumor.

Outros fatores que também podem influenciar (Olshan, 2010; Scully, 2011):

- A higiene oral: se descuidada, o número de bactérias aumenta, podendo algumas destas produzir acetaldeído (que é um carcinogénico). Alguns autores apontam que doentes com doença periodontal e má higiene oral apresentam maior risco de contrair cancro e pior prognóstico.
- A infeção por HSV: o vírus *Epstein Barr* e o *HSV-1* e *HSV-2* parecem estar implicados na evolução cancerígena, factos que não estão ainda comprovados.
- Fatores ocupacionais: exposições ao formaldeído ou a pesticidas, por exemplo, comportam risco.
- A dieta: o alto consumo de vegetais e frutas e o consumo de peixe podem reduzir o risco em cerca de 50-70%, ao invés de carnes e ovos.

1.4 - Tratamentos oncológicos para cancro de cabeça e pescoço

A escolha da modalidade de tratamento adequado é determinada pela localização anatômica do tumor, pelo estadio, pelo tamanho tumoral, pelo envolvimento de estruturas adjacentes, passando também pela tentativa de reduzir ao máximo a morbilidade funcional e estética (Taibi, *et al.*, 2014).

A intervenção cirúrgica e/ou com recurso a radioterapia continua a ser o *standard* de tratamento de cancro de cabeça e pescoço (Logan, 2009).

1.4.1 - Cirurgia

É considerado o tratamento de primeira linha. A escolha do procedimento passa pela avaliação da localização, do tamanho, da proximidade óssea e da profundidade de infiltração neoplásica (Taibi, *et al.*, 2014).

A cirurgia ressetiva radical (usada em neoplasias de estadio avançado) está a ser substituída pelo uso de procedimentos menos invasivos, como a (Taibi, *et al.*, 2014):

- Cirurgia robótica trans-oral – melhora a visualização do campo e a habilidade de manipulação.
- Micro-cirurgia – facilita a remoção de neoplasias extensas e as reconstruções .

A reconstrução com recurso a enxertos livres (normalmente oriundas do antebraço ou da coxa) permitem melhorias no processo de cicatrização devido à vascularização, que oferecem, reduzem o risco de formação de fístulas e oferecem melhores hipótese de restauração de função e forma. Contudo, requerem a utilização de tubos de alimentação enquanto ocorre a cicatrização (Schoeff, Barrett, Gress, & Jameson, 2013; Taibi, *et al.*, 2014).

A cirurgia pode causar sequelas orais, como: o trismus, dor ou problemas devidos à remoção de glândulas salivares (Deboni, *et al.*, 2012). Também pode alterar a anatomia afetando a deglutição e a proteção das vias aéreas (Schoeff *et al.*, 2013).

1.4.2 - Quimioterapia

A quimioterapia citotóxica é muito usada em oncologia, quer seja combinada com outros tratamentos ou não. Os agentes utilizados por esta modalidade de tratamento têm como propósito inibir o crescimento celular e causar apoptose celular, através de danos

causados no ADN (Bhosle & Hall, 2009). Por atuar em células com rápido *turn over*, afeta tanto células malignas como normais. Esta inerente falta de seletividade celular é uma desvantagem, pois, p.e., as células da cavidade oral (por apresentarem rápido *turn over*) sofrem efeitos diretos e indiretos (Walsh, 2010; Chaveli-López, 2014).

Consoante o propósito da utilização desta terapia, surgem três tipos de terminologias (Bhosle & Hall, 2009):

- Paliativa: Utilizada para melhorar a qualidade de vida e para gestão de sintomas. É usada em doentes com metástases avançadas que já criaram resistências ao tratamento.
- Adjuvante: Utilizada após o tratamento de primeira linha, tendo como objetivo combater micro-metástases que podem não ser visíveis
- Neoadjuvante/Indução: Aqui a quimioterapia é o tratamento de primeira linha, antes de qualquer intervenção cirúrgica. Tem como objetivos diminuir o tamanho do tumor, permitindo uma cirurgia mais conservadora.

A toxicidade inerente da quimioterapia advém do efeito sistémico que esta apresenta (ao contrário da radioterapia que apresenta efeitos locais). Podem ocorrer os seguintes efeitos secundários orais (Watters, Epstein, & Agulnik, 2011; Chaveli-López, 2014):

- Disfunção salivar transitória e sintomas de xerostomia, como: sensação de boca seca e de ardor, lábios fissurados, alteração na superfície lingual, dificuldade em utilizar próteses dentárias e em beber água.
- Uma dor semelhante a pulpíte, mas de origem neurológica.
- Uma diminuição das IgA e IgG salivares.
- Disgeusia em 50-75% dos doentes com descrição de gosto metálico ou sensação de gosto salgado quando se alimentam;
- Infecções (devido à supressão medular que ocorre):
 - ✓ Bacterianas: a gengivite ulcerativa é a forma mais comum de manifestação oral destas infecções. Espécies como *Streptococcus viridans*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Actinobacillus*, *Actinomycetcomitans*, *Actinomyces* encontram-se aumentadas.

- ✓ Fúngicas: a espécie mais prevalente é *Candida albicans*. Porém infecção por espécies não *albicans* (p.e. *Candida tropicalis*) podem surgir e se não diagnosticadas podem levar a sépsis.
- ✓ Virais
- Petéquias, equimoses, hematomas ou hemorragias difusas poderão ocorrer em qualquer local da cavidade oral, devido à tendência hemorrágica que os doentes apresentam (quer seja devida a supressão medular ou devido a dano hepático que pode alterar a produção de fatores de coagulação).

Também a ocorrência de náuseas e vômitos durante a quimioterapia faz com que o apetite diminua, podendo afetar o estado nutricional do doente (Schoeff *et al.*, 2013).

Os agentes utilizados para cancro de cabeça e pescoço podem ser de várias classes, como: os compostos de platina, os anti-metabolitos e os taxanos (mais utilizada em casos de quimioterapia de indução). Considera-se a cisplatina (composto de platina) como o agente *standard*, quer seja utilizado singularmente quer em combinação com radioterapia (Argiris *et al.*, 2008). No caso de quimioterapia adjuvante, de acordo com a *European Organization for Research and Treatment for Cancer* e com o *Radiation Therapy Oncology Group*, os ciclos devem ser dados a cada três semanas (dias 1, 22 e 43) (Deboni, *et al.*, 2012). Mas também pode ser dada em ciclos de quatro semanas, para que os tecidos normais tenham tempo para recuperar, por via intravenosa ou através de um cateter central jugular ou subclávio (Bhosle & Hall, 2009).

1.4.3 - Bioterapia

Este tipo de terapia interfere com a carcinogénese, inibindo o crescimento e a sobrevivência das células cancerosas. É usada em variados tipos de cancro (pulmão, rim, mama, colo-rectal, cabeça e pescoço e hematopoiético) (Epstein & Agulnik, 2011) e tem como alvo elementos responsáveis pela patogénese tumoral (Dorsey & Agulnik, 2013). Este tratamento oferece hipóteses a doentes que apresentem efeitos adversos intoleráveis de outras terapias ou que apresentem tumores resistentes à radiação (Dorsey & Agulnik, 2013).

No caso do cancro de cabeça e pescoço os alvos podem ser dois recetores: o EGFR (*endothelial growth factor recetor*) e o VEGFR (*vascular endothelial growth factor recetor*). Ambos representam vias essenciais que levam ao crescimento tumoral, à

angiogénese e à metastização e também estão relacionados com pior prognóstico. Quanto ao EGFR ocorre 90% de sobre-expressão em casos de carcinoma de células escamosas em cancro de cabeça e pescoço (Dorsey & Agulnik, 2013).

Para ambos os recetores podem ser utilizados anticorpos monoclonais (dados via intravenosa) ou inibidores da tirosina quinase (domínio intracelular do recetor). O Cetuximab é, atualmente, o mais estudado e utilizado para cancro de cabeça e pescoço porque é altamente específico. É considerado como tratamento de primeira linha para cancro recorrente ou metastizado combinado com agentes de platina ou 5-fluoracil (Dorsey & Agulnik, 2013). As evidências sugerem que se este tipo fármaco for utilizado conjuntamente com a radioterapia irá ocorrer controlo local (Logan, 2009), especialmente em cancro da orofaringe, hipofaringe e laringe (Huang & O'Sullivan, 2013). Os efeitos adversos desta terapia são menos intensos, p.e., relativamente ao Cetuximab encontramos efeitos como: a xerostomia, a mucosite, a disfagia e a faringite (Watters *et al.*, 2011).

1.4.3 - Radioterapia

É um dos tratamentos mais usados para cancro de cabeça e pescoço, podendo ser utilizada como tratamento primário ou após cirurgia (Bhide & Nutting, 2010). O desafio primordial desta terapia é a de controlar o tumor reduzindo ao mínimo o dano a estruturas adjacentes (Deboni, *et al.*, 2012).

A unidade básica da dose de radiação é o Gray (Gy), que se define como a quantidade de energia libertada para uma dada massa tecidual. 1Gray corresponde a 1Joule libertado num quilograma de tecido (Hocl, 2013). Normalmente é dada em cinco frações de 1,8 a 2Gy durante 6,5 a 7semanas, num total de radiação de 66 a 70Gy (Deboni, *et al.*, 2012).

A radiobiologia explica o método pelo qual a radiação ionizante interfere na reprodução de células cancerígenas e baseia-se num processo chamado ionização. Este ocorre devido a raios γ e/ou X, que contêm energia suficiente para retirar eletrões das moléculas do ADN nuclear, originando radicais livres que causam reações de oxidação, levando à quebra e dano no ADN e nas suas futuras replicações, causando morte celular ou perda de capacidade reprodutiva (Jham & Freire, 2006; Hocl, 2013).

O cancro de cabeça e pescoço é particularmente difícil de tratar usando radiação devido a alguns fatores (Daly-Schveitzer, Juliéron, Gan Tao, Moussier, & Bourhis, 2011):

- Os tumores normalmente têm tamanho considerável e/ou são pouco radiosensíveis, resultando numa maior necessidade de altas doses de radiação. No caso de lesões macroscópicas: doses iguais ou maiores a 70Gy (entregues em 35 frações ao longo de 7 semanas) e em lesões microscópicas doses iguais ou maiores a 50Gy (em 25 frações ao longo de 5 semanas);
- A configuração tumoral é complexa, pelo que pode originar formas geométricas fora do comum;
- Muitos órgãos saudáveis ficam sujeitos a exposição de radiação.

1.4.3.1 - Tipos de Radioterapia

1. Radioterapia Convencional (2D-RT): utiliza técnicas a duas dimensões e métodos de estudo dos raios-x e cálculos manuais. A distribuição da dose não tem em conta a heterogeneidade tecidular, apenas se baseia na área da pele que contorna o local tumoral. Em doentes com cancro de cabeça e pescoço, a glândula parótida recebe altas doses de radiação, pelo que a xerostomia grave tardia é um sintoma frequente (Daly-Schveitzer *et al.*, 2011; Marta, *et al.*, 2014).

2. 3D-CRT ou *Three-Dimensional Conformal Radiation Therapy*: técnica mais moderna de transmissão de radiação, em que a definição de local-alvo é feita através de relações anatómicas entre a anatomia do doente e a anatomia normal. Baseia-se em dados de tomografias computadorizadas e algoritmos informáticos para definir contornos e diferentes densidades radiológicas, calculando a dose requerida (Marta, *et al.*, 2014).

3. IMRT ou *Intensity-Modulated Radiation Therapy* : é uma forma avançada de radioterapia em três dimensões (3D-CRT). Baseia-se num equipamento controlado por um computador que usa raios com intensidade de radiação modulada com vários níveis de intensidade (não uniforme). Utiliza vários feixes de radiação que se vão subdividindo e adquirindo intensidades diferentes, sendo que o objetivo é que a dose chegue aos órgãos-alvo com melhor conformação e distribuição. Assim, o gradiente de dose é melhorado, isto para que os órgãos adjacentes saudáveis não estejam a ser irradiados ou esteja só a chegar-lhes uma dose mínima, pois as margens do campo irradiado são diminuídas (Teoh, Clark, Wood, Whitaker, & Nisbet, 2011; Chaveli-López, 2014;

Huang & O'Sullivan, 2013). Esta modulação traduz-se numa distribuição de doses adaptáveis a praticamente qualquer configuração tumoral (Daly-Schveitzer *et al.*, 2011). Permite que certas estruturas sejam salvaguardadas da radiação, como as glândulas salivares, a mucosa do trato respiratório alto, nervos ópticos, cóclea, músculos constritores faríngeos, tronco cerebral e a medula espinal (Bhide & Nutting, 2010)

O hiperfracionamento aumenta a eficácia deste tratamento, pois permite a entrega de várias (duas ou três) frações diárias enquanto reduz a dose por fração, não aumentando os efeitos tóxicos (Argiris, *et al.*, 2008). Este demonstra ser uma vantagem para o controlo local da neoplasia (cerca de 8%, comparando com o tratamento monofracionado). Devido ao número elevado de sessões de radioterapia e quimioterapia diário tentou-se alcançar um meio termo com o *simultaneous integrated boost technique*, permitindo o alcance de doses elevadas para volumes de alto risco (>2Gy), mas mantendo a dose em áreas com lesões microscópicas (<2Gy) (Daly-Schveitzer *et al.*, 2011).

Como todas as terapias, esta também apresenta algumas desvantagens, como: o tempo que o planeamento requer e a necessidade de angulações específicas dos feixes (Teoh *et al.*, 2011). A colocação inapropriada do doente, modificações anatómicas durante o tratamento (redução tumoral ou anatomia do doente modificada devido a perda de peso) ou movimentos viscerais realizados durante o tratamento (respirar e deglutir) também podem alterar a dose transmitida (Daly-Schveitzer *et al.*, 2011; Marta, *et al.*, 2014).

Existem ainda técnicas rotacionais de IMRT, como:

- VMAT ou *Volumetric-Modulated Arc Therapy*: É uma das técnicas de distribuição de IMRT, realizada através de um arco que diminui significativamente o tempo do tratamento (de 20min com IMRT para 5min) (Daly-Schveitzer *et al.*, 2011; Epstein *et al.*, 2012).
- Tomoterapia: É uma técnica rotacional de IMRT combinada com IGRT (*Image Guided Radiotherapy*). Permite alta eficiência na distribuição homogénea da dose aliada a uma administração precisa, devido a uma delineação das margens eficaz (Van Gestel, *et al.*, 2013).

4. Radioterapia Estereotáxica: técnicas que combinam localização precisa com entrega de radiação. O *Gamma Knife* foi o primeiro modelo a surgir, mas apenas entrega a radiação relativamente a um ponto central do foco. O *Cyber Knife* é o mais recente e combina referências anatómicas a partir de imagens 2D e 3D enquanto o doente se encontra na posição de tratamento (imagiologia ativa), também é capaz de transmitir radiação a qualquer ponto do local-alvo (Dieterich & Gibbs, 2011).

5. Terapia de partículas ou IMPT (*Intensity-Modulated Proton Therapy*): utiliza partículas carregadas (prótons), ao invés de fótons. Apresenta alta taxa de controlo em neoplasias radioresistentes (Taïbi, *et al.*, 2014). As propriedades destes elementos permitem melhor distribuição da dose, reduzindo a dose para estruturas saudáveis (Vissink, van Luijk, Langendijk, & Coppes, 2014) e, segundo Epstein *et al.*, (2012) consegue diminuir até 5% de toxicidade a longo prazo.

6. Braquiterapia: consiste na colocação de material radioativo no local afetado ou próximo dele. A fonte é altamente focada para a área a tratar, ocorrendo uma quebra rápida de radiação para os tecidos saudáveis que rodeiam essa zona. É mais usada para estadios iniciais de cancro oral, mas também após procedimento cirúrgico ou em conjunto com radioterapia externa (Huang & O’Sullivan, 2013).

1.5 - Complicações da Radioterapia

No ano de 1911 foi reportada uma diminuição da salivação e dificuldades na alimentação devido à radioterapia (Liu *et al.*, 2013). Este tratamento apresenta várias sequelas, como: a xerostomia, a disfagia, dificuldade em deglutir, mastigar e falar. Também altera a sensação do gosto, da nutrição, e causa mudanças na população microbiana e na mucosa oral; aumenta o risco de lesões de cárie e causa esofagite crónica (Valdez, Atkinson, Ship & Fox, 1992).

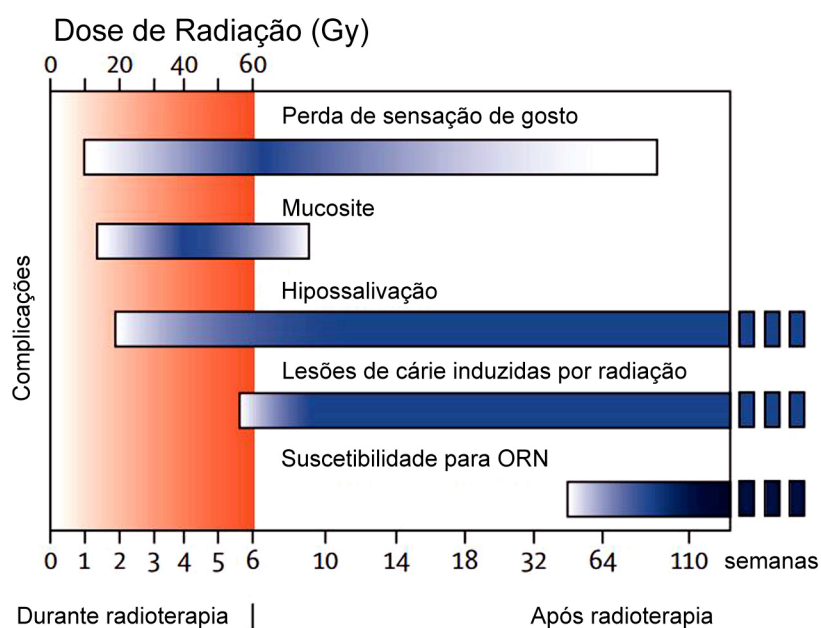


Figura 4: Timeline das complicações orais relacionando-as com a duração e dose da radioterapia (Adaptada de Kielbassa, Hinkelbein, Hellwig, & Meyer-Lückel, 2006)

As consequências estão relacionadas com fatores, como o volume e a área irradiada, a dose total, a fração da radiação, a idade, a condição clínica do doente e a duração do tratamento (Jham & Freire, 2006; Sadri, Abdollahi, Tehrani, & Ghanbari, 2011).

Os efeitos tóxicos podem ser (Bhide & Nutting, 2010; Taibi, *et al.*, 2014):

- Agudos – relacionados com o efeito citotóxico em células saudáveis com *turn over* rápido. Destes faz parte a mucosite, a disfagia, a xerostomia, a dermatite e dor.
- Tardios – envolve efeitos nas células estaminais, nas citoquinas e alterações vasculares. Destas fazem parte a xerostomia tardia, um grau avançado de

disfagia, a osteorradionecrose, a perda de audição, fibrose da pele e a necrose da cartilagem laríngea.

Apesar do *turnover* lento, característico das células acinares, estas apresentam-se extremamente radiosensíveis. As glândulas salivares apresentam-se como tecidos que respondem de forma aguda à radioterapia, sendo que a xerostomia é um efeito secundário precoce (Dodds *et al*, 2005; Konings, Coppes, & Vissink, 2005). Já as células das mucosas apresentam *turn over* rápido e pouca resistência à radiação, sendo que a cavidade oral, faringe e laringe respondem com eritema a doses baixas de radiação (Andrews & Griffiths, 2001).

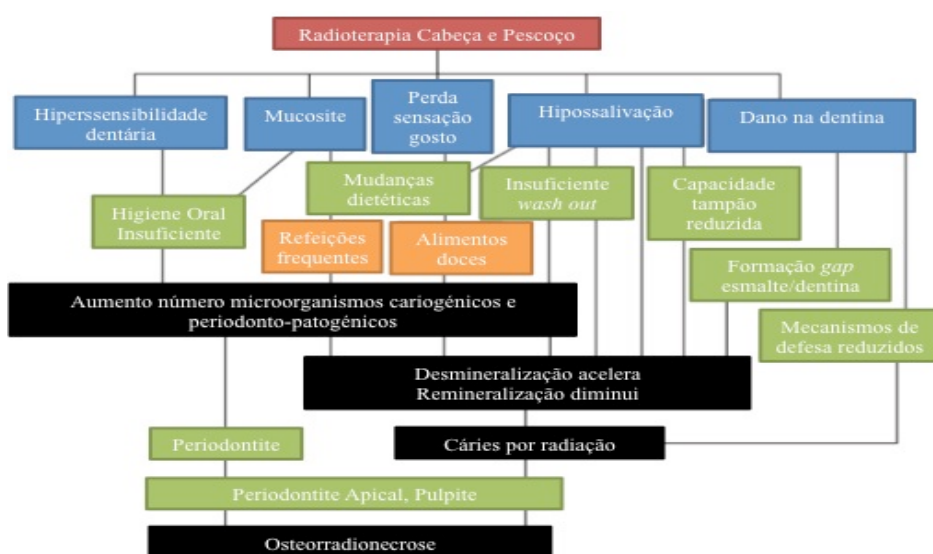


Figura 5: Demonstração das consequências diretas e indiretas que advêm do tratamento com radioterapia (Adaptada de Kielbassa, Hinkelbein, Hellwig & Meyer-Lücker, 2006)

1.5.1 - Mucosite

O termo “mucosite” surge em 1980 e é definido como um processo inflamatório que advém do tratamento com radioterapia e/ou quimioterapia. É considerado o efeito tóxico agudo da cavidade oral com maior importância em doentes oncológicos e ocorre em cerca de 80% dos doentes. Apresenta altas taxas de incidência em doentes sujeitos a quimioterapia e considera-se a causa mais comum de morbidade (Vissink *et al.*, 2003; Argiris *et al.*, 2008; Campos, Campos, Aarestup, & Aarestup, 2014).

Designa-se como uma irritação da mucosa resultante de um processo inflamatório, que deriva de um dano tecidular. A sintomatologia engloba desde a simples sensação de ardor até dores fortes, podendo também levar a sangramento espontâneo. É a causa mais comum de dor em pacientes submetidos a radioterapia, interferindo nas atividades

normais diárias e na qualidade de vida destes doentes. Pode ocorrer disfagia (dificuldade ao deglutir), disartria (pobre coordenação muscular na fonação) ou odinifagia (dor ou sensação de ardor ao deglutir) (Jham & Freire, 2006; Bhide & Nutting, 2010; Epstein *et al.*, 2012; Campos *et al.*, 2014).

Clinicamente, a mucosa começa por ficar com aspecto eritematoso, devido à fina espessura do epitélio, à vasodilatação e à inflamação da submucosa. A mucosa torna-se friável e avermelhada. Com o avançar do tratamento vai progredindo para erosão e ulceração, com presença de pseudomembrana. O aparecimento desta lesão em caso de tratamento com recurso a quimioterapia pode ir de sete a catorze dias, desaparecendo poucas semanas após o final. Se com recurso a radioterapia aparece entre as duas e três semanas após a primeira sessão e demora mais tempo a resolver (Andrews & Griffiths, 2001; Walsh, 2010; Lalla, Saunders, & Peterson, 2014).



Figura 6: Lesão de mucosite oral na mucosa jugal. De notar a área central ulcerada coberta por pseudomembrana branca, rodeada por uma área eritematosa erosiva (Retirada de Lalla, Saunders & Peterson, 2014).

Pode haver necessidade de descontinuar ou reduzir doses do tratamento oncológico devido à dor severa. Esta descontinuação afeta negativamente o prognóstico da doença e pode aumentar a suscetibilidade a infeções oportunistas (Campos *et al.*, 2014; Lalla *et al.*, 2014).

A classificação da mucosite é feita segundo o grau de severidade, de acordo com a OMS ou com a CTCAE v4.03, em anexo (5).

Relativamente a intervenções sistémicas (Lalla *et al.*, 2014):

- O uso da crioterapia, pois esta diminui a temperatura oral e causa vasodilatação (quantidade de quimioterapia que chega à cavidade oral é menor).
- A terapia laser de baixa intensidade parece prevenir esta lesão, pois apresenta efeitos anti-inflamatórios e promove a cicatrização.

- A utilização de fatores de crescimento, como a palifermina (fator de crescimento de queratinócitos) também é recomendado para a prevenção, pois promove a proliferação epitelial.
- O uso de fármacos anti-inflamatórios, como a benzidamina inibe a produção de citocinas e tem efeito analgésico e anestésico.
- Também o uso de IMRT e outras novas técnicas podem reduzir as lesões nas mucosas devido ao seu mecanismo de irradiação mais sofisticado (Epstein *et al.*, 2012).

1.5.2 - Trismus

Designa-se como a incapacidade de abrir a boca normalmente. Deriva de altas doses de radiação na zona da ATM, incluindo os músculos Masseter e Pterigoideus. Causa fibrose, pouca flexibilidade tecidual e dor (Andrews & Griffiths, 2001; Jham & Freire, 2006; Epstein *et al.*, 2012).

1.5.3 - Alterações do Gosto

São das primeiras manifestações do tratamento com radioterapia a ocorrer. As alterações podem ir de 75 a 100% da sensação do gosto, podendo ser apenas uma hipogeusia ou até uma disgeusia. Contudo, esta função recupera entre dois a quatro meses após a irradiação (Andrews & Griffiths, 2001; Vissink *et al.*, 2003; Jham & Freire, 2006; Kielbassa, Hinkelbein, Hellwig, & Meyer-Lückel, 2006; Epstein *et al.*, 2012).

Além do dano causado às papilas e da atrofia papilar (característica da idade avançada), a entrega dos estímulos gustatórios fica limitada pela hipossalivação e aumento de viscosidade salivar (Andrews & Griffiths, 2001; Kielbassa *et al.*, 2006; Jham & Freire, 2006; Epstein *et al.*, 2012;).

1.5.4 - Disfagia

É um efeito tóxico tardio consequente da intensificação da terapia com radiação que danifica músculos e nervos envolvidos na deglutição. A flexibilidade faríngea e esofágica é reduzida e ocorre atrofia muscular (Bhide & Nutting, 2010; Schoeff *et al.*, 2013).

Apesar dos avanços no campo da radioterapia a disfagia continua a ser um efeito frequente que se pode desenvolver passados meses ou anos após terapia e poderá levar a casos severes ou permanentes com necessidade crónica de alimentação entérica (Schoeff *et al.*, 2013). Porém, Bhide & Nutting (2010) demonstram que o IMRT diminui o dano aos músculos responsáveis por este processo.

1.5.5 - Hipossalivação e Xerostomia

Bergonie relatou, em 1911, o primeiro caso de dano das glândulas salivares devido à radioterapia (Nagler, 2002). Este radiobiologista francês considerou o mecanismo pelo qual o dano ocorria um verdadeiro enigma, pois o *turn over* das células glandulares é lento (60-120 dias), mas as diferenças qualitativas e quantitativas da saliva indicam que as glândulas respondem de forma aguda (Vissink *et al.*, 2003; Dirix, Nuyts, & Van den Bogaert, 2006; Vissink, *et al.*, 2010). O tecido salivar é radiosensível e vulnerável a doses maiores que 30Gy, sendo que tais doses podem causar disfunção salivar permanente (Epstein *et al.*, 2012).

A xerostomia é um sintoma, uma apreciação subjetiva do doente quanto à sensação de boca seca (Dirix *et al.*, 2006), podendo indicar fluxo salivar reduzido ou ausente devido a dano nas glândulas salivares (Bhide *et al.*, 2009). Normalmente os doentes experienciam esta sensação quando o fluxo salivar não estimulado se encontra diminuído em cerca de 45-50% (Kałużny, Wierzbicka, Nogala, Milecki, & Kopeć, 2014). É um efeito comum em sobreviventes do cancro, podendo apresentar-se como moderada a severa em cerca de 60% dos casos (Argiris *et al.*, 2008). Os efeitos da diminuição de produção salivar pode ter vários sinais e sintomas, como: lesões de cárie, diversas infecções orais, mucosite, halitose, dor oral, sensação de ardor, impossibilidade de uso de prótese, dificuldade na mastigação, danificação do sentido do gosto e problemas no sono. Tudo isto tem um impacto muito negativo na qualidade de vida do doente (Nagler, 2002; Epstein *et al.*, 2012).

Por vezes, a irradiação das glândulas salivares é inevitável devido à sua localização, extensão do tumor e doses recomendadas, que muitas vezes são altas (Nagler, 2002). Estudos em humanos e animais mostram que a radiação não só causa xerostomia e modificações no fluxo salivar, como também provoca alterações histopatológicas nas glândulas salivares (Liu *et al.*, 2013). A arquitetura glandular é substituída por remanescentes ductais e tecido conjuntivo laxo, ocorrendo inflamação progressiva, atrofia, fibrose e degeneração glandular (Andrews & Griffiths, 2001).

1.5.5.1 - O Mecanismo de Disfunção Salivar

Foi sugerido por Nagler (2002) um possível mecanismo da ocorrência de dano nas glândulas salivares devido à radioterapia. Este autor sugere que os agentes responsáveis pela radiosensibilidade da parótida são íons metálicos, como o ferro e o cobre, que são agentes altamente oxirredutores, também envolvidos na secreção de grânulos de saliva nas células serosas. Isto poderá explicar o porquê da parótida ser a mais afetada, já que é maioritariamente constituída por células serosas. Os íons evidenciam o efeito letal da radiação sobre o ADN, que neste caso é um efeito tardio, ocorrendo depois de vários ciclos celulares e levando à morte da célula – *delayed reproductive cell death*. Contudo, alguns autores constataam que apesar da redução drástica de fluxo salivar nas primeiras semanas de tratamento, não ocorre perda celular significativa (Vissink, *et al.*, 2010).

De acordo com Konings *et al.* (2005), o alvo da radiação são os recetores de superfície muscarínicos das células acinares, modificando a transdução de sinal e, consequentemente a excreção de água.

A disfunção salivar poderá ser causada por dois mecanismos de acordo com Bhide *et al.*, (2009): o dano membranar da célula altera o mecanismo de transdução de sinal intracelular, alterando o funcionamento da célula e/ou devido à morte das células progenitoras que faz diminuir o número de células secretoras funcionais. Contudo, os resultados variam quanto à teoria da apoptose acinar (Vissink, *et al.*, 2010)

A redução drástica do *output* salivar deve-se à substituição dos ácinos por elementos ductais e células inflamatórias (Walsh, 2010). Foi demonstrada uma correlação direta entre a diminuição de fluxo salivar e a diminuição de volume acinar (Nagler, 2002).

Vários estudos atribuem maior influência dos ácinos serosos no desenvolvimento de hipossalivação e xerostomia após radioterapia. Sagowski, Wenzel, Tesche, Jenicke &

Jaehne (2003) confirmaram que a glândula parótida se mostra muito mais radiosensível do que a submandibular, isto porque com apenas 16Gy detetaram danos glandulares na parótida, enquanto que a submandibular só apresentou danos com 30Gy. Também Epstein *et al.* (2012) atribui maior radiosensibilidade aos ácinos serosos. Contudo, Vissink *et al.* (2010) considera que estas duas glândulas são igualmente sensíveis à radiação, no que diz respeito ao seu funcionamento.

Após irradiação de 40-42 Gy o fluxo salivar é praticamente indetetável. Em estudos em animais o dano glandular pode-se dividir em quatro fases. Na primeira observa-se apenas uma diminuição da excreção de água, sem alteração no número de células acinares. Na segunda fase já se observam danos na membrana plasmática das células acinares, não havendo secreção de amilase. Na terceira já não existem ácinos funcionais devido à morte de células progenitoras. Numa fase mais avançada, a regeneração dos ácinos ocorre, mas o fluxo e a produção de amilase ainda estão afetadas. A observação histológica sugere que apesar de ainda haver regeneração acinar, estes não mantêm a sua funcionalidade intacta devido ao dano vascular e ductal (Bhide *et al.*, 2009).

1.5.5.2 - Alterações salivares e lesões dentárias

Várias alterações salivares devido à radioterapia podem levar a desmineralização e cavitação dentária. As lesões normalmente iniciam-se na face lingual cervical e podem ser devidas a (Vissink, *et al.*, 2003; Kielbassa *et al.*, 2006; Epstein, *et al.*, 2012):

- Diminuição de substratos para o esmalte;
- Queda do pH;
- Diminuição da capacidade-tampão;
- Xerostomia associada;
- Perda da camada protetora da saliva, que aumenta a sensibilidade dentária
- Alterações na flora oral, como sugerem estudos onde doentes submetidos a radioterapia apresentam maior prevalência de espécies fúngicas e bacterianas, tais como *Lactobacillus spp.*, *Streptococcus aureus* e *Candida albicans* (Jham & Freire, 2006), sendo que estas alterações parecem estar relacionadas com a xerostomia associada.
- A modificação da dieta.

A radiação também provoca efeitos diretos na junção amelo-dentinária e no periodonto, que podem levar a ORN e perda de peças dentárias (por diminuição da vascularização e destruição do trabeculado) (Vissink, *et al.*, 2003; Trott, *et al.*, 2012).



Figura 7: Desmineralização e cavitação dentária do 2º quadrante após um ano de radiação (Retirada de Epstein *et al.*, 2012).

1.5.5.3 - CTCAE – Common Terminology Criteria for Adverse Effects

O CTCAE é uma base que descreve variados efeitos adversos com terminologia descritiva e um sistema de escalas de gravidade, para que se reportem esses efeitos em termos universais. As escalas vão de 1 até 5, sendo que representam sintomas sem necessidade de intervenção até à morte. De acordo com estes critérios na versão 4.03, a Hipossalivação ou *Dry mouth* vem referenciada como uma “desordem caracterizada por um fluxo salivar reduzido na cavidade oral”. Pode ser classificada de grau 1 a 3. Sendo que (Common Terminology Criteria for Adverse Effects, 2010):

- O grau 1 representa sintomas associados, tais como saliva espessa, sem que hajam alterações dietéticas significativas. Neste grau o fluxo não estimulado é maior que 0,2ml/min.
- O grau 2 representa sintomas moderados e alterações dietéticas – com necessidade de uma dieta à base de líquidos, purés ou alimentos suaves e necessidade de lubrificantes orais. O fluxo não estimulado está situado entre 0,2 a 0,1 ml/min.
- O grau 3 representa uma situação em que o *intake* de alimentos tem que ser realizado com a ajuda de um tubo e em que o fluxo não estimulado é menor do que 0,1ml/min.

1.5.5.4 - Modificação da Qualidade de Vida

A manutenção de um bom estado nutricional, bem como de um estado emocional positivo podem levar a um maior sucesso de tratamento oncológico (Vissink *et al.*, 2003). A saúde sistémica é influenciada pelas condições orais, pois há um menor *intake* de nutrientes, calorias, vitaminas e minerais, podendo levar a fadiga e depressão, afetando a sobrevivência (Epstein *et al.*, 2012).

A manutenção desse estado é desafiante devido ao impacto da doença e das terapias no sistema digestivo superior (Schoeff *et al.*, 2013).

A saliva tem um papel importante na digestão. Assim sendo, a diminuição do fluxo salivar contribui negativamente no estado nutricional do doente. O fato do doente sentir menos, ou nenhum, sabor nos alimentos (disgeusia) e dores orofaciais causa desinteresse na sua nutrição, que acaba por ter consequências sistémicas como: anorexia, bulimia, desidratação, malnutrição e perda de peso. Também o trismus poderá estar relacionado com a nutrição caso se verifique que a abertura da boca é tão pequena que não permite ao doente alimentar-se. Tudo isto afeta a qualidade de vida do doente, que nestes casos é baixa (Andrews & Griffiths, 2001).

A xerostomia é um dos fatores que contribui para a diminuição da qualidade de vida em doentes submetidos a radioterapia. Estes, não só apresentam dificuldades na mastigação, como no transporte de alimentos pelo trato gastro-intestinal (Dirix *et al.*, 2006). Esta situação arrasta consigo uma componente psicossocial, que em 50% dos doentes pode levar a depressão, preocupação e estados de tensão (Sood, *et al.*, 2014). A dificuldade no discurso também ocorre nestes doentes, pelo que poderão desenvolver dificuldades na área da intercompreensão (Dirix *et al.*, 2006).

Por todos estes motivos os doentes com cancro de cabeça e pescoço têm, normalmente, uma qualidade de vida baixa. Não só devido às alterações de funções fisiológicas básicas, como alterações dos sentidos e também por modificação das características individuais, como a aparência e a voz (Taibi, *et al.*, 2014).

A existência de um bom estado nutricional é imprescindível sendo que poderá ser necessária a colocação de tubos de gastrotomia, de forma a assegurar uma nutrição adequada. Poderão ser colocados tubos PEG (*percutaneous endoscopic gastrotomy*), SIG (*surgically-inserted gastrotomy*) ou RIG (*radiologically-inserted gastrotomy*) (Schoeff *et al.*, 2013).

Em anexo (5) apresentam-se guidelines da NCCN para a colocação de tubos PEG profiláticos. Existe ainda alguma controvérsia sobre o seu uso profilático, porém evidências sugerem um aumento da tolerância aos tratamentos, melhorias no estado nutricional e aumento da qualidade de vida (Schoeff *et al.*, 2013).

1.5.5.5 - A Prevenção e Gestão Sintomática

A saliva é um fluido complexo que apresenta uma multitude de funções, pelo que a sua substituição total se torna um verdadeiro desafio. Hoje em dia já existem várias formas de prevenir e gerir sintomas (Dirix *et al.*, 2006).

A. A **prevenção** do dano provocado pela radiação pode ser feita através de:

Agentes radioprotectores permitem a sua acumulação nas células glandulares prevenindo danos, como p.e, a Amifostina. A sua forma ativa protege o ADN contra radicais livres, diminuindo os sintomas de xerostomia sentidos, no entanto vários estudos apresentam efeitos adversos como a hipotensão transitória e efeitos gastro-intestinais (náuseas e vômitos) (Kałużny *et al.*, 2014).

Técnicas inovadoras de radioterapia permitem que a dose seja significativamente menor, implicando uma melhoria na qualidade de vida dos doentes (Dirix *et al.*, 2006).

Com a radioterapia convencional os sintomas de xerostomia são mais severos. Com a utilização de IMRT, onde o risco de exposição à radiação é menor, os sintomas diminuem, melhorando a qualidade de vida associada (Porter, Fedele, & Habbab, 2010). A radioterapia tridimensional também permite evitar a exposição de estruturas saudáveis a altas doses de radiação (Epstein *et al.*, 2012). Marta, *et al.*, (2014) ainda acrescenta que o IMRT deveria ser considerado o tratamento curativo *standard* para estes doentes, pois a diminuição desta toxicidade não afeta o controlo tumoral.

A QUANTEC – *Quantitative Analyses of Normal Tissue Effects in the Clinic* – propôs algumas *guidelines* para a diminuição de toxicidade utilizando IMRT. De acordo com a QUANTEC a incidência de xerostomia severa (menos do que 25% do que o valor inicial) pode ser diminuída desde que uma das glândulas parótidas receba menos do que 20Gy ou desde que as duas glândulas recebam menos do que 25Gy (Vissink *et al.*, 2014).

Outras técnicas também podem ser usadas e parecem promissoras, como a radioterapia com prótons, que em alguns estudos demonstra diminuir os efeitos tóxicos em 70% dos doentes (Vissink, *et al.*, 2010; Vissink *et al.*, 2014).

Toxina Botulínica: estudos em animais sugerem que esta provoca uma diminuição da quantidade de grânulos secretórios nos ácinos, que se pensa serem os responsáveis pela morte das células acinares (Logan, 2009; Vissink, *et al.*, 2010).

B. A **gestão** de sintomas ou **estimulação** de função residual pode ser feita:

Com recurso a sialogogos, tais como a pilocarpina, um agonista muscarínico e parassimpatomimético que estimula os recetores colinérgicos das glândulas exócrinas, ativando a salivação, lacrimação, diaforese e secreção pancreática. Só oferece resultados se for sempre usado. É contra-indicado em doentes com asma, uveíte aguda e glaucoma e deve ser usado com precaução em doentes cardiovasculares ou que apresentem doenças pulmonares obstrutivas crónicas. Os seus efeitos adversos são sudorese, alteração da frequência urinária, lacrimação e rinite (Kałużny *et al.*, 2014).

Por substituição salivar: O uso de água, chás e soluções salinas são substitutos viáveis, porém a sua retenção na cavidade oral é limitada (Kielbassa *et al.*, 2006).

O uso de saliva artificial permite a hidratação dos tecidos e assemelha-se à viscosidade salivar. A saliva artificial pode ser baseada em: carboximetilcelulose, mucinas ou “xantham-gum”. Sendo que estas duas últimas são preferenciais para os doentes devido à superioridade da molhabilidade e propriedades reológicas (Vissink, *et al.*, 2010).

Ainda podem ser utilizados substitutos “gel-like” baseados em poliglicerilmetacrilato, que são considerados promissores (Vissink, *et al.*, 2010).

C. Abordagens que possam permitir a **restauração da função** glandular:

Através de transferência de glândulas salivares: A introdução, no ano 2000, de um método inovador permitiu a transferência de glândulas salivares para que se pudesse prevenir a xerostomia sem comprometer o resultado do tratamento com radiação. Esta técnica é realizada de forma a que a glândula transferida só receba cerca de 5% de radiação durante o tratamento. A eficácia deste método está comprovada pela diminuição drástica da incidência de xerostomia, mesmo utilizando a técnica e doses de radioterapia convencional (Sood, *et al.*, 2014). É considerada como a “melhor profilaxia para danos por radioterapia” (Vissink *et al.*, 2014).

A utilização de oxigênio hiperbárico também é um método, mas ainda em estudo. Alguns autores já o descrevem como potenciador da angiogênese e mobilizador de células estaminais provenientes da medula (Porter, Fedele, & Habbab, 2010). É indicado para o tratamento e prevenção da ORN, mas quanto à sua influência na xerostomia existem inconsistências quanto ao fluxo medido e à apreciação subjetiva do doente (Kałużny *et al.*, 2014).

Terapia Génica ainda se encontra em desenvolvimento. Tem como princípio a transferência génica através de vetores (virais ou não virais) que ativam a secreção de fluidos através de células epiteliais que sobrevivem ao dano da radiação. No caso das glândulas salivares os vetores virais são os mais utilizados, como o Ad5 e o vetor viral serotipo 2 adeno-associado – AAV2. Outro vetor promissor é um vetor da aquaporina-1 (AdhAQP1), por ser capaz de restaurar o fluxo salivar perdido, pela introdução de canais aquosos nas glândulas, restaurando a capacidade de secreção. Estudos demonstraram um aumento no fluxo salivar, para valores de pré-irradiação superiores a 80%, após administração de AdhAQP1 (Porter *et al.*, 2010; Vissink, *et al.*, 2010; Vissink *et al.*, 2014)

Terapias relacionadas com células estaminais:

A hipossalivação após a radioterapia parece estar relacionada com a perda de células estaminais, que já não têm capacidade de se diferenciarem em células acinares, causando incapacidade de produção saliva (Lombaert, Brunsting, Wierenga, Kampinga, de Haan, & Coppes, 2008).

As células estaminais podem ser de três tipos: embrionárias, pluripotentes e adultas. Contudo, são necessárias investigações para entender o processo de diferenciação e desenvolvimento de linhagens celulares específicas das glândulas salivar, de modo a prevenir a formação de teratomas. As células estaminais adultas, quer sejam somáticas ou tecidulares apresentam-se unipotentes, isto é, apenas formam linhagens celulares do órgão onde se inserem. Assim sendo, não existe o risco de formação de teratomas (Coppes & Stokman, 2011).

O uso deste tipo de célula estaminal tem sido investigado e verificou-se que estas, quando transplantadas, secretam fatores que influenciam a proliferação endógena de células estaminais. A utilização de células estaminais adultas parece ser promissora, mas são necessárias mais investigações. Apesar destas células não se apresentarem

totipotenciais como as embrionárias não apresentam problemas éticos no seu uso, permitem uso autólogo e apresentam um fenótipo estável (Coppes & Stokman, 2011).

Também se pode efetuar transplantação de células estaminais recolhidas antes de se iniciar a radioterapia, sendo inseridas após o tratamento para estimulação do *turn over* celular. Os resultados mostram restauração do fluxo salivar, homeostase glandular (Vissink *et al.*, 2014).

Quanto ao uso de fatores de crescimento, estes apresentam um risco de potencial proliferação tumoral ou interferência nos tratamentos oncológicos, pelo que são necessárias essas precauções antes de serem utilizados em ensaios clínicos (Coppes & Stokman, 2011).

Após estudos em animais, o factor de crescimento de queratinóticos (*Keratinocyte Growth Factor*) foi considerado como um bom agente de indução e expansão de células estaminais que permitiu uma repopulação parcial, possibilitando uma secreção normal e uma preservação de todos os tipos celulares. A sua administração antes da radioterapia aumentou a quantidade de células estaminais sendo possível a sua sobrevivência em maior número após o tratamento. Já administrações após a radioterapia mostraram um aumento na velocidade de expansão das células que sobreviveram. Esta aparenta ser uma via terapêutica sujeita a uma adequação individualizada da dose, no sentido de controlar o risco teratogénico. Isto implicará uma certeza absoluta do método, pelo que mais estudos deverão ser realizados (Lombaert, Brunsting, Wierenga, Kampinga, de Haan, & Coppes, 2008).

O fator de crescimento de insulina I também tem sido testado em animais e parece reduzir a apoptose induzida pela radiação e preservar a função glandular (Vissink, *et al.*, 2010). Mais recentemente descobriu-se que a Roscovitina (inibidor da quinase-dependente de ciclina) também apresenta potencial reparador de ADN, em glândulas salivares (Vissink *et al.*, 2014).

Contudo, é sabido que os fatores de crescimento são moléculas de regulação complexa e secreção celular, com funções autócrinas e/ou parácrinas e têm sobretudo ação dose-dependente e tempo-dependente. Isto é, são partes integrantes e catalizadoras de uma cascata de eventos de regulação multimodal e intracorporal, cuja real capacidade não pode ser individualizada nem facilmente medida em experimentação *in vitro* (Tatsuyama, Maezawa, Baba, Imamura, & Fukuda, 2000).

Neuroeletroestimulação é uma terapêutica aplicada em diversas áreas da Medicina, sendo que o seu potencial está comprovado. Este método é utilizado em *pacemakers* e no controlo da doença de Parkinson, p.e., e também nas glândulas salivares. Existem várias formas de implementar a técnica de estimulação elétrica na cavidade oral, podendo ser colocado de forma fixa – em casos mais severos, ou removível. A evidência mostra-nos que a melhoria da xerostomia e hipossalivação é significativa, tornando-se uma opção viável para o seu controlo (Lafaurie, *et al.*, 2009).

1.5.6 - Alterações Qualitativas da Saliva

As alterações qualitativas e quantitativas na saliva são evidentes após a radioterapia (Liu *et al.*, 2013). A saliva adquire uma coloração esbranquiçada, amarelada ou acastanhada. A sua produção diminui e a sua viscosidade aumenta, o que leva a uma diminuição da lubrificação oral com impacto na qualidade de vida do doente (Valdez *et al.*, 1992; Vissink *et al.*, 2003; Pontes, Polizello, & Spadaro, 2004; Walsh, 2010; Epstein *et al.*, 2012). Apenas uma semana após radioterapia há diferenças entre o fluxo salivar de saliva estimulada e de saliva não estimulada (Liu *et al.*, 2013).

A hipossalivação causada por radiação poderá induzir alterações bioquímicas salivares (Sadri *et al.*, 2011). A radioterapia (bilateral) demonstra ter importância na alteração do fluxo e da composição salivar, pois a variação destes parâmetros está dependente da dose de radiação (Hey, *et al.*, 2011).

1.5.7 - Efeitos Ósseos

O osso é 1,8 vezes mais denso do que os tecidos moles, e, como tal, absorve uma maior quantidade de radiação (Andrews & Griffiths, 2001). A radiação ionizante causa uma diminuição nos vasos sanguíneos, o que diminui o fluxo sanguíneo, promovendo a necrose óssea (ORN) (Andrews & Griffiths, 2001; Vissink *et al.*, 2003).

As alterações ósseas iniciais devem-se a mudanças no sistema de remodelação óssea, sendo que os osteoblastos se apresentam mais radiosensíveis que os osteoclastos, o que leva a supor que a atividade osteoclástica aumenta (Vissink *et al.*, 2003). A capacidade de cicatrização também se encontra danificada devido à existência de tecido hipovascular, hipocelular e hipóxico (Lee, *et al.*, 2009).

Além de todos estes efeitos deletérios há que ter em conta os efeitos que a idade acarreta. A circulação sanguínea óssea é modificada, invertida. Passa de centrífuga, em que o sangue circula desde a região medular (via vasos de grande calibre) para o periósteo e tecidos moles, a centrípeta, em que o fluxo sanguíneo é mantido por vasos de pequeno calibre localizados no periósteo e tecidos moles. Esta inversão é influenciada pela suscetibilidade da artéria alveolar inferior a fenómenos de arteriosclerose, tornando-se tortuosa e de calibre diminuído (Misch, 2007).

A junção dos efeitos do envelhecimento com os efeitos da radiação funcionam em conjunto para que esta necrose ocorra.

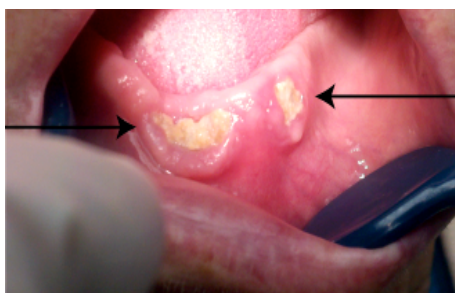


Figura 7: Osteorradionecrose, de notar a exposição óssea após radioterapia devido ao uso de prótese traumática (Retirada de Epstein *et al.*, 2012).

A ORN pode ser devida a trauma ou espontânea. O tipo espontâneo está relacionado com a idade do doente e com a dose de radiação que este recebe (dose recebida pela mandíbula $>50\text{-}60\text{Gy}$) e caracteriza-se pela morte celular de tecidos normais, insustentabilidade do *turn over* tecidular e da síntese de colagénio. Se associada a trauma tende a ser uma complicação tardia da radioterapia, causada pela morte e dano celular, resultando num processo de cicatrização óssea danificada. Esta complicação é mais comum na mandíbula (Vissink *et al.*, 2003; Epstein *et al.*, 2012; Huang & O'Sullivan, 2013). Antigamente, pensava-se que quanto mais tempo passava desde o final da irradiação menor era o risco de ORN. Contudo, hoje em dia sabe-se que esta complicação pode ocorrer até três anos após a radioterapia, sendo que a maioria dos casos aparece no espaço de um ano (Lee, *et al.*, 2009).

A extração dentária no campo mandibular irradiado é considerado fator de risco *major* para que a ORN ocorra (Lee, *et al.*, 2009). Contudo, a incidência de ORN pode diminuir se a área mandibular irradiada for menor, p.e., usando IMRT (Huang & O'Sullivan, 2013).

Projeto de Investigação

A investigação teve lugar no Instituto Português de Oncologia de Lisboa, Francisco Gentil E.P.E. e abrangeu vários serviços deste hospital: Estomatologia, Radioterapia, Cabeça e Pescoço, Otorrinolaringologia, Patologia Clínica e Oncologia Médica.

As **hipóteses** consideradas foram:

1. O IMRT tem menos toxicidade a nível salivar que a técnica convencional?
2. Quais são as alterações salivares causadas pela Radioterapia com a técnica IMRT?

Os **objetivos** propostos são:

Objetivo **principal**: Verificar a toxicidade salivar em doentes submetidos a IMRT.

Objetivo **secundário**: Comparar os resultados obtidos com dados históricos publicados para avaliar a toxicidade.

2 - Materiais e Métodos

População do Estudo:

Critérios e métodos de elegibilidade

Critérios de inclusão: Doentes diagnosticados maiores de 18 anos com cancro de cabeça e pescoço que ainda não tenham começado tratamento com recurso a radioterapia - IMRT.

Critérios de exclusão: Doentes diagnosticados com patologia maligna das glândulas salivares, porque nestes casos a radioterapia será focada nelas e os valores estariam diferentes do que noutros tipos de cancro de cabeça e pescoço.

Tamanho da amostra: A amostra são 10 doentes. A falta dos doentes às consultas quer fosse por desistência, por alteração dos horários sem aviso prévio e alteração de cirurgias ou sessões de quimioterapia impossibilitou o cumprimento da proposta inicial de 20 doentes.

Desenho do estudo

O primeiro passo foi obter as aprovações da Comissão de Ética, Comissão Científica e da Unidade de Investigação Clínica do IPOLFG. Após isto, o passo foi perguntar ao doente se estaria interessado a colaborar no estudo, informando-o do mesmo e solicitando a assinatura do consentimento informado.

Após obtenção do consentimento foi realizada colheita de saliva. Todas as primeiras recolhas foram feitas antes do primeiro tratamento com radioterapia (IMRT). Após a recolha procedeu-se à análise laboratorial dos vários parâmetros selecionados (no Laboratório de Patologia Clínica).

As análises salivares foram também realizadas aplicando a mesma metodologia após os seis meses do tratamento.

Plano de avaliações e de recolha de dados

Dado que o metabolismo bacteriano pode modificar a composição salivar e a presença de restos celulares também pode interferir nas análises (Schipper *et al.*, 2007) recorreu-se à centrifugação imediata quando entregues no Laboratório.

Idealmente a recolha deverá ser realizada num ambiente calmo e os doentes deverão ter acesso a instruções prévias como: “não fumar, comer, beber ou realizar procedimentos para higiene oral”. É ainda aconselhado que o doente beba água para standardizar o nível de hidratação sistémica. Para análises sequenciais aconselha-se que a recolha seja feita à mesma hora, devido às variações do fluxo com o ritmo circadiano (Falcão *et al.*, 2013).

Tal como Navazesh & Kumar (2008) indicam a recolha de saliva não estimulada foi realizada previamente à recolha de saliva estimulada.

Apesar da bibliografia descrever a recolha de saliva num tempo de cinco minutos decidiu-se reduzir esse tempo, pois notou-se ser incómodo para os doentes, que se iam distraíndo do objetivo, tornando-se difícil a sua cooperação.

Quanto à não estimulada: era apenas pedida que hidratasse a cavidade oral e que drenasse passivamente/ativamente (consoante a dificuldade em produzir saliva) para um tubo graduado de plástico durante três minutos. Estes métodos de drenagem são

considerados confiáveis para medição do fluxo e reproduzíveis (Falcão, Mota, Pires & Bezerra, 2013).

Quanto à estimulada: era pedida a hidratação da cavidade oral e a mastigação de um cubo de parafina (CRT-Buffer ®), durante dois minutos. Após esta estimulação foi pedido ao doente que engolissem a saliva acumulada, e que drenasse passivamente durante três minutos para um tubo graduado de plástico. Este método mastigatório é considerado como o mais confiável, não interferindo com a análise de componentes salivares (Falcão *et al.*, 2013).

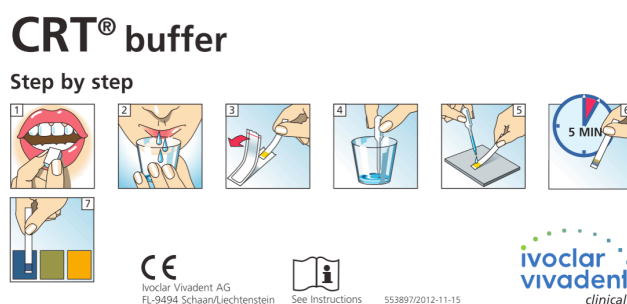


Figura 8: Processo step by step para medição da capacidade-tampão com o CRT-Buffer ® Ivoclar Vivadent

Após a recolha procedeu-se à medição do fluxo, (medição dos ml secretados no espaço de 3 minutos). Após a qual se passou à classificação como apresentando bom fluxo, baixo ou hipossalivação, com base na seguinte tabela:

Taxa de fluxo De saliva total (ml/min)	Muito baixa	Baixa	Normal
sem estímulo	< 0,1	0,1– 0,25	> 0,25
Com estímulo	< 0,7	0,7 – 1,0	> 1,0

Tabela 3: Classificação de taxas de fluxo de saliva total (Retirada de Falcão, Mota & Pires, 2013).

Do tubo que continha a saliva estimulada retirou-se com uma pipeta, dada pelo CRT-Buffer ®, e procedeu-se à realização do teste para classificar a capacidade tampão. Sendo que poderia apresentar os seguintes resultados:

- Azul – Alta capacidade-tampão,
- Verde – Média capacidade-tampão,
- Amarela – Baixa capacidade-tampão.

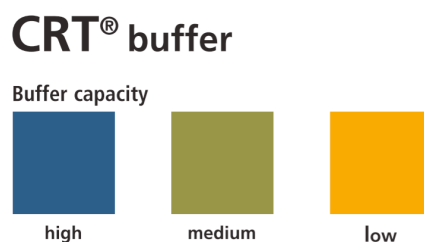


Figura 9: Classificação da capacidade-tampão pelo CRT-Buffer® Ivoclar Vivadent

Retiraram-se ainda algumas informações do doente como:

- ✓ Género;
- ✓ Idade
- ✓ Patologias associadas;
- ✓ Morfologia da neoplasia;
- ✓ Topografia da neoplasia;
- ✓ Estadiamento;
- ✓ Quais os tratamentos que iriam realizar.

CrITÉRIOS de avaliação (endpoints) e variáveis em análise

A avaliação da saliva consistiu em parâmetros bioquímicos e imunológicos da saliva. Pretendeu-se avaliar as seguintes características: fluxo salivar, pH, cloro, potássio, sódio, cálcio, imunoglobulina A e amilase salivar.

Na tabela seguinte apresentam-se os procedimentos que foram utilizados para doseamento desses componentes, com base nos protocolos do serviço de Patologia Clínica do IPOLFG. O pH foi analisado utilizando papel colorimétrico.

Componentes	Procedimento	Resumo	Unidade
Sódio, Cloro, Potássio	ICT Na ⁺ , K ⁺ , Cl ⁻ (ISE indireto)	O sistema ICT é o utilizado para quantificação de sódio, cloro e potássio. Eléttrodos seletivos iónicos (ISE) destes iões utilizam membranas seletivas, gerando-se um potencial elétrico. A tensão gerada é comparada com tensões do calibrador e convertidas em concentração iónica	mEq/L
Cálcio	Espetrofotometria visível - Arsenazo III	Baseia-se na reação entre o cálcio e o corante arsenazo III, em solução ácida, formando um complexo azul-lilás. A cor medida a 660nm é proporcional à concentração de cálcio.	mg/dL
Total de Proteínas	Turbidimetria/ Cloreto de Benzetónio	Procedimento turbidimétrico, o qual utiliza o cloreto de benzetónio como o desnaturante proteico, originando uma suspensão quantificável a 404nm	mg/dL
Amilase	Espetrofotometria visível - Substrato de CNPG3	A amilase hidrolisa o 2-cloro-4-nitrofenil-alfa-D-maltotriosido (CNPG3) e liberta 2-cloro-4-nitrofenol (CPNP), formando 2-cloro-4-nitrofenil-alfa-D-maltosido, maltotriose e glucose. A taxa de formação de CPNP deteta-se por espectrofotometria a 404nm e é diretamente proporcional à atividade da amilase.	U/L
s-IgA	Nefelometria	Imunoensaio que se baseia na reação da IgA com um antissoro específico, originando um imunocomplexo. Este dispersa um raio de luz que passa através da amostra. A intensidade da luz dispersa no nefelómetro dependendo do teor da proteína que pode ser medido comparando com diluições de um padrão de concentração conhecida.	mg/dL

Tabela 4: Procedimentos para doseamento dos componentes salivares

Plano de análise estatística

Pretendeu-se realizar uma análise estatística descritiva, dado o número pequeno da amostra, utilizando Microsoft Office Excel 2010 e SPSS.

3 - Resultados

A tabela seguinte descreve a localização, classificação histológica, estadiamento (pré tratamento e após cirurgia e análise histológica) e o tratamento de cada doente que participou no estudo.

Doente	Topografia	Morfologia	cTNM	pTNM	Estadio	Tratamento
A	Seios acessórios C31.9	Carcinoma células escamosas não queratinizante	T4N0M0	T4bNxM0	IVB	Excisão e IMRT
B	Seio maxilar C31.0	Carcinoma células escamosas	T3N2bM0	T3N2bM0	IVA	Excisão e IMRT
C	Bordo da língua C02.1	Carcinoma células escamosas	T2N0M0	T1N0M0	I	Excisão e IMRT
D	Supraglote C31.2	Carcinoma basalóide escamoso	T2N2cM0	T1N1M0	III	Excisão e IMRT
E	Amígdala SOE C09.9 (exceto amígdala lingual e faríngea)	Carcinoma células escamosas	T1N3M0	T1NxM0	IVB	Quimioterapia e IMRT
F	Bordo da língua C02.1	Carcinoma células escamosas	T1N0M0	T1N2bM0	IVA	Excisão e IMRT
G	Nasofaringe SOE C11.9 (Recidiva)	Carcinoma linfoepitelial	T1N0M0	-	I	IMRT
H	Cavidade nasal	Carcinoma células escamosas	T1N0Mx	T1N0Mx	I	IMRT
I	Localização primária desconhecida C80.9	Carcinoma SOE	TxN1M1	TxN1M1	IVC	Quimioterapia e IMRT
J	Orofaringe com extensão à nasofaringe (amígdala lingual)	Carcinoma células escamosas	T4N2bMx	T4N2bM0	IVA	Quimioterapia e IMRT

Tabela 5: Descrição das neoplasias dos doentes em estudo (SOE – sem origem específica)

Dos 10 doentes que participaram no estudo, quanto à topografia:

- 2 apresentavam neoplasias nos seios (acessórios e maxilar);
- 2 apresentavam neoplasias no bordo da língua;
- 2 apresentavam neoplasia na faringe (orofaringe, nasofaringe e amígdala sem origem específica);
- 1 apresentava neoplasia na cavidade nasal;
- 1 apresentava neoplasia da laringe (zona supraglótica);
- 1 apresentava neoplasia com localização desconhecida.

Quanto à morfologia:

- 8 doentes apresentavam carcinoma de células escamosas, sendo que um doente apresentava a sua variante basalóide
- 1 doente apresentava carcinoma linfo-epitelial, este mesmo era o único com recidiva;
- 1 doente apresentava carcinoma sem origem específica.

Quanto ao estadiamento:

- 3 em estadio I;
- 0 em estadio II;
- 1 em estadio III;
- 3 em estadio IV-A;
- 2 em estadio IV-B;
- 1 em estadio IV-C

Quanto ao tratamento recebido

- 5 foram sujeitos a cirurgia e radiação;
- 2 foram apenas sujeitos a radiação IMRT;
- 3 receberam tratamento com quimioterapia e radiação IMRT.

Em seguida apresenta-se uma tabela referente ao género, idade e patologias associadas dos doentes que participaram no estudo.

Doente	Género	Idade	Patologias Associadas
A	F	40	Mioma prévio, Rinite alérgica, Arritmia
B	F	81	Hipertensão arterial controlada
C	F	29	Nada a referir
D	M	71	Hipertensão arterial
E	F	61	Gastrite, Bronquite asmática, Insuficiência venosa membros inferiores
F	F	61	Insuficiência venosa membros inferiores
G	M	59	Hipocolesterolémia
H	M	57	Nada a referir
I	F	56	Hipotiroidismo, Hipertensão arterial
J	M	51	Helicobacter Pilory +, Hipertensão arterial, Úlcera gástrica, Glaucoma

Tabela 6: Referência do género, idade e patologias associadas

Análise de frequência e percentagem para género			
Código	Valor	Frequência	Percentagem
1	Masculino	4	40%
2	Feminino	6	60%
Total		10	100%

Tabela 7: Frequência e percentagem da amostra quanto ao género

A amostra apresenta maior percentagem de ocorrência no sexo feminino.

A média de idades da amostra foi de 56,6 o que pela observação dos dados do ROR se localiza na média da taxa de incidência deste tipo de cancro.

Na tabela seguinte apresentam-se os resultados quanto ao fluxo salivar obtido para cada doente antes da radioterapia para saliva estimulada e não estimulada.

Doente	Taxa de fluxo não estimulado Pré-Radio (ml/min)	Classificação Fluxo	Taxa de fluxo Estimulado Pré-Radio (ml/min)	Classificação Fluxo
A	0,47	Fluxo normal	0,70	Fluxo baixo
B	0,47	Fluxo normal	0,37	Hipossalivação
C	0,67	Fluxo normal	0,80	Fluxo baixo
D	0,73	Fluxo normal	1,07	Fluxo normal
E	0,43	Fluxo normal	0,50	Hipossalivação
F	0,33	Fluxo normal	0,43	Hipossalivação
G	0,33	Fluxo normal	0,17	Hipossalivação
H	1,00	Fluxo normal	1,30	Fluxo normal
I	0,40	Fluxo normal	0,70	Fluxo baixo
J	0,40	Fluxo normal	0,50	Hipossalivação

Tabela 8: Resultados quanto ao fluxo não estimulado e estimulado antes da radioterapia

As duas tabelas seguintes apresentam os cálculos de frequência e percentagem quanto à classificação do fluxo salivar:

<i>Frequência e percentagem quanto à classificação do fluxo não estimulado pré-radioterapia</i>			
Código	Valor	Frequência	Percentagem
1	Fluxo normal	10	100%
2	Fluxo Baixo	0	0%
3	Hipossalivação	0	0%
Total		10	100%

Tabela 9: Frequência e percentagem quanto à classificação de fluxo não estimulado antes da radioterapia

<i>Frequência e percentagem quanto à classificação do fluxo estimulado pré-radioterapia</i>			
Código	Valor	Frequência	Percentagem
1	Fluxo normal	2	20%
2	Fluxo Baixo	3	30%
3	Hipossalivação	5	50%
Total		10	100%

Tabela 10: Frequência e percentagem quanto à classificação de fluxo estimulado antes da radioterapia

A seguinte tabela apresenta a análise descritiva quanto aos valores obtidos de fluxo salivar antes da radioterapia:

<i>Análise descritiva dos fluxos salivares antes da radioterapia</i>		
	Não Estimulado	Estimulado
Média	0,52	0,65
Mediana	0,45	0,6
Desvio-padrão	0,21	0,34
Variância	0,05	0,11
Kurtosis	1,667	0,167
Skewness	1,443	0,683
Mínimo	0,33	0,17
Máximo	1	1,3

Tabela 11: Análise descritiva dos fluxos salivares antes da radioterapia

Os valores obtidos apresentam curvas próximas da normalidade, pelo teste de Kurtosis e Stewness.

A tabela abaixo apresenta os valores de radiação totais (Gy) recebidos por cada doente, e as taxas de fluxo salivar não estimulado e estimulado após a radioterapia.

Doente	Dose de radiação total (Gy)	Taxa de fluxo não estimulado Pós-Radio (ml/min)	Classificação Fluxo	Taxa de fluxo estimulado Pós-Radio (ml/min)	Classificação Fluxo
A	66,00	1,33	Fluxo normal	0,53	Hipossalivação
B	66,00	0,18	Fluxo baixo	0,67	Fluxo baixo
C	60,00	0,38	Fluxo normal	0,67	Fluxo baixo
D	60,00	0,33	Fluxo normal	0,73	Fluxo baixo
E	69,96	0,50	Fluxo normal	0,50	Hipossalivação
F	60,00	0,33	Fluxo normal	0,33	Hipossalivação
G	66,00	0,33	Fluxo normal	0,67	Fluxo baixo
H	66,00	1,33	Fluxo normal	1,17	Fluxo normal
I	69,96	0,50	Fluxo normal	0,67	Fluxo baixo
J	69,96	0,33	Fluxo normal	0,33	Hipossalivação

Tabela 12: Resultados do fluxo salivar (não estimulado e estimulado) após radioterapia e a dose de radiação recebida por cada doente

As duas tabelas abaixo apresentam os cálculos de frequência e percentagem quanto à classificação do fluxo da amostra após radioterapia, para saliva não estimulada e estimulada:

<i>Frequência e percentagem quanto à classificação do fluxo não estimulado pós-radioterapia</i>			
Código	Valor	Frequência	Percentagem
1	Fluxo Normal	9	90%
2	Fluxo Baixo	1	10%
3	Hipossalivação	0	0%
	Total	10	100%

Tabela 13: Análise de frequência e percentagem quanto à classificação do fluxo não estimulado após a radioterapia

A frequência e percentagem quanto à classificação do fluxo em saliva não estimulada após seis meses mostra que:

- O fluxo normal diminuiu;
- O fluxo baixo aumentou;
- A hipossalivação não se manifestou.

<i>Frequência e percentagem quanto à classificação do fluxo estimulado pós-radioterapia</i>			
Código	Valor	Frequência	Percentagem
1	Fluxo Normal	1	10%
2	Fluxo Baixo	5	50%
3	Hipossalivação	4	40%
Total		10	100%

Tabela 14: Análise de frequência e percentagem quanto à classificação do fluxo estimulado após a radioterapia

A frequência e percentagem quanto à classificação do fluxo em saliva estimulada após seis meses mostra que:

- O fluxo normal diminuiu;
- O fluxo baixo aumentou;
- A hipossalivação diminuiu.

<i>Análise descritiva quanto a fluxos salivares após a radioterapia</i>		
	Não Estimulado	Estimulado
Média	0,58	0,62
Mediana	0,38	0,67
Moda	0,33	0,67
Desvio-padrão	0,44	0,24
Variância	0,19	0,06
Kurtosis	0,403	2,529
Skewness	1,407	1,078
Mínimo	0,18	0,33
Máximo	1,33	1,17

Tabela 15: Análise descritiva dos fluxos salivares após a radioterapia

Os valores obtidos apresentam curvas próximas da normalidade, à exceção dos valores de fluxo estimulado que apresentam uma ligeira tendência leptocúrtica, pelo teste de Kurtosis e Stewness.

A média da dose total recebida pelos doentes foi de 65,39Gy.

Na seguinte tabela apresentam-se os resultados quanto à capacidade-tampão da saliva antes e após o tratamento.

Doente	Capacidade tampão pré radio	Capacidade tampão pós radio
A	Verde	Azul
B	Azul	Amarelo
C	Azul	Azul
D	Azul	Amarelo
E	Azul	Amarelo
F	Azul	Amarelo
G	Azul	Amarelo
H	Azul	Azul
I	Verde	Amarelo
J	Amarelo	Amarelo

Tabela 16: Resultados quanto à capacidade tampão pré e pós-radioterapia

Frequência e percentagem quanto à capacidade-tampão pré radioterapia			
Código	Valor	Frequência	Percentagem
1	Azul	7	70%
2	Verde	2	20%
3	Amarelo	1	10%
	Total	10	100%

Tabela 17: Análise de frequência e percentagem quanto à capacidade-tampão pré-radioterapia

Frequência e percentagem quanto à capacidade-tampão pós radioterapia			
Código	Valor	Frequência	Percentagem
1	Azul	3	30%
2	Verde	0	0%
3	Amarelo	7	70%
	Total	10	100%

Tabela 18: Análise de frequência e percentagem quanto à capacidade-tampão pós-radioterapia

Analisando a capacidade-tampão observa-se uma descida considerável antes e seis meses após.

A próxima tabela apresenta os resultados laboratoriais dos parâmetros em estudo da saliva não estimulada antes da radioterapia.

Doente	pH	Sódio (meq/L)	Potássio (meq/L)	Cloro (meq/L)	Cálcio (mg/dL)	Proteínas (mg/dL)	s-IgA (mg/dL)	Amilase (UI/L)
A	7	20	23	21	5,10	46,10	6,91	218492
B	8	20	28	23	4,20	57,60	15,50	54814
C	8	20	19	20	3,60	76,50	8,02	149893
D	8	20	21	26	4,00	86,40	16,70	233635
E	6	20	24	42	14,40	156,70	13,40	61941
F	7	20	28	20	6,30	146,00	34,10	69027
G	7	36	18	40	3,60	296,80	8,04	65421
H	7	20	33	25	3,00	74,80	18,90	77791
I	6	20	52	49	8,00	343,80	36,60	799100
J	3	22	27	48	11,70	85,50	19,80	318615

Tabela 19: Resultados laboratoriais de saliva não estimulada antes da radioterapia

O valor assinalado a vermelho foi um valor assumido. Dado que a deteção técnica não permitiu chegar a um valor concreto, devido ao pequeno volume da amostra, assumiu-se o valor igual à média dos restantes. Os resultados para o sódio obtidos foram <20 meq/L devido ao limite mínimo de deteção do aparelho. Como tal, todos os valores de sódio foram dados como sendo iguais a 20 meq/L.

Nas seguintes tabelas apresenta-se a análise estatística descritiva.

	pH	Sódio	Potássio	Cloro
Média	6,7	Média 21,8	Média 27,3	Média 31,4
Mediana	7	Mediana 20	Mediana 25,5	Mediana 25,5
Moda	7	Moda 20	Moda 28	Moda 20
Desvio-padrão	1,49	Desvio-padrão 5,03	Desvio-padrão 9,82	Desvio-padrão 11,93
Variância	2,23	Variância 25,29	Variância 96,46	Variância 142,27
Kurtosis	4,259	Kurtosis 9,565	Kurtosis 4,752	Kurtosis -1,719
Skewness	-1,868	Skewness 3,076	Skewness 1,981	Skewness 0,553
Mínimo	3	Mínimo 20	Minimum 18	Minimum 20
Máximo	8	Máximo 36	Maximum 52	Maximum 49

Tabela 20: Análise descritiva dos componentes de saliva não estimulada antes da radioterapia para (pH, sódio, potássio e cloro)

	Cálcio	Proteínas	s-IgA	Amilase
Média	6,39	Média 137,02	Média 17,797	Média 204872,9
Mediana	4,65	Mediana 85,95	Mediana 16,1	Mediana 113842
Moda	3,6	Moda #N/A	Moda #N/A	Moda #N/A
Desvio-padrão	3,86	Desvio-padrão 103,32	Desvio-padrão 10,33	Desvio-padrão 227810,00
Variância	14,91	Variância 10675,58	Variância 106,63	Variância 51897399016
Kurtosis	0,795	Kurtosis 0,698	Kurtosis 0,043	Kurtosis 5,933
Skewness	1,349	Skewness 1,378	Skewness 0,976	Skewness 2,321
Mínimo	3	Mínimo 46,1	Mínimo 6,91	Mínimo 54814
Máximo	14,4	Máximo 343,8	Máximo 36,6	Máximo 799100

Tabela 21: Análise descritiva de componentes na saliva não estimulada antes da radioterapia (cálcio, total de proteínas, s-IgA e amilase)

Os valores de moda denominados #N/A indicam-nos que os valores são todos diferentes, sendo que não é possível obter o resultado mais frequente.

Em geral, os valores apresentam-se dentro da normalidade da curva, excepto valores referentes à amilase, sódio e potássio, segundo os testes de Kurtosis e Skewness.

Na tabela seguinte apresentam-se os resultados laboratoriais dos parâmetros salivares em estudo, da saliva estimulada recolhida antes da radioterapia.

Doente	pH	Sódio (meq/L)	Potássio (meq/L)	Cloro (meq/L)	Cálcio (mg/dL)	Proteínas (mg/dL)	s-IgA (mg/dL)	Amilase (UI/L)
A	8	20	16	20	5,10	38,20	9,68	272114
B	8	20	24	20	3,80	77,30	11,00	58483
C	8	20	22	20	3,40	87,50	9,36	178610
D	8	20	23	20	20,00	56,00	37,80	193730
E	7	20	18	27	12,00	235,80	3,00	3983
F	8	20	25	26	4,90	159,30	22,00	124315
G	7	20	11	23	6,60	370,20	14,30	50073
H	8	20	21	20	3,20	45,80	4,00	66665
I	8	20	36	34	4,20	149,20	10,50	402328
J	6	20	26	34	10,40	70,70	14,00	232985

Tabela 22: Resultados laboratoriais dos componentes da saliva estimulada antes da radioterapia

Nas seguintes tabelas apresenta-se a análise estatística descritiva para a tabela 12.

<i>pH</i>		<i>Potássio</i>		<i>Cloro</i>		<i>Cálcio</i>	
Média	7,6	Média	22,2	Média	24,4	Mean	7,36
Mediana	8	Mediana	22,5	Mediana	21,5	Median	5
Moda	8	Moda	#N/A	Moda	20	Mode	#N/A
Desvio-padrão	0,70	Desvio-padrão	6,67	Desvio-padrão	5,70	Standard Deviantion	5,35
Variância	0,49	Variância	44,40	Variância	32,49	Sample Variance	28,66
Kurtosis	2,045	Kurtosis	1,647	Kurtosis	-0,428	Kurtosis	2,821
Skewness	-1,658	Skewness	0,466	Skewness	1,021	Skewness	1,729
Mínimo	6	Mínimo	11	Minimum	20	Minimum	3,2
Máximo	6	Máximo	36	Maximum	34	Maximum	20

Tabela 23: Análise descritiva de componentes da saliva estimulada antes da radioterapia (pH, potássio, cloro e cálcio)

<i>Proteínas</i>		<i>s-IgA</i>		<i>Amilase</i>	
Média	129	Média	13,56	Média	158328,6
Mediana	82,4	Mediana	10,75	Mediana	151462,5
Moda	#N/A	Moda	#N/A	Moda	#N/A
Desvio-padrão	104,99	Desvio-padrão	10,06	Desvio-padrão	122379,70
Variância	11022,19	Variância	101,23	Variância	14976791154
Kurtosis	2,275	Kurtosis	3,575	Kurtosis	0,157
Skewness	1,580	Skewness	1,719	Skewness	0,736
Mínimo	38,2	Mínimo	3	Mínimo	3983
Máximo	370,2	Máximo	37,8	Máximo	402328

Tabela 24: Análise descritiva dos componentes da saliva estimulada antes da radioterapia (total de proteínas, s-IgA e amilase)

Não se realizou a análise descritiva do sódio, pois os resultados obtidos para este eletrólito também foram <20 meq/L devido ao limite mínimo de detecção do aparelho. Como tal, todos os valores de sódio foram dados como sendo iguais a 20 meq/L.

Os valores de moda denominados #N/A indicam-nos que os valores são todos diferentes, sendo que não é possível obter o resultado mais frequente.

Na tabela seguinte apresentam-se os resultados quanto aos parâmetros bioquímicos da saliva não estimulada, seis meses após a radioterapia.

Processo	pH	Sódio (meq/L)	Potássio (meq/L)	Cloro (meq/L)	Cálcio (mg/dL)	Proteínas (mg/dL)	IgA (mg/dL)	Amilase (UI/L)
A	8	20	19	20	5,6	33,6	5,59	214065
B	7	20	4	20	2,4	18,9	0,17	9460
C	6	20	26	29	4,1	125,5	6,69	856900
D	5	21	24	42	8,4	45,8	15,48	107301
E	5	21	25	25	24,6	820,4	5	179203
F	6	20	12	20	2,2	79,2	20	52093
G	7	20	6	20	3,6	178,7	15,1	43135
H	8	20	32	25	5,5	77,9	22,6	50678
I	4	20	4	20	34	94,5	6,46	427
J	6	28	6	26	4	190,3	10,6	7

Tabela 25: Resultados laboratoriais dos componentes da saliva não estimulada após a radioterapia

Os valores assinalados a vermelho foram valores assumidos. Dado que a deteção técnica não permitiu chegar a um valor concreto, devido ao pequeno volume das amostras, assumiram-se valores iguais às médias dos restantes.

Em seguida apresentam-se as tabelas com a análise descritiva realizada.

<i>pH</i>		<i>Sódio</i>		<i>Potássio</i>		<i>Cloro</i>	
Média	6,2	Média	21	Média	15,8	Média	24,7
Mediana	6	Mediana	20	Mediana	15,5	Mediana	22,5
Moda	6	Moda	20	Moda	4	Moda	20
Desvio-padrão	1,317	Desvio-padrão	2,49	Desvio-padrão	10,612	Desvio-padrão	6,91
Variância	1,73	Variância	6,22	Variância	112,62	Variância	47,79
Kurtosis	-0,751	Kurtosis	9,235	Kurtosis	-1,777	Kurtosis	4,487
Skewness	-0,087	Skewness	3,007	Skewness	0,169	Skewness	1,992
Mínimo	4	Mínimo	20	Mínimo	4	Mínimo	20
Máximo	8	Máximo	28	Máximo	32	Máximo	42

Tabela 26: Análise descritiva dos componentes da saliva não estimulada após a radioterapia (pH, sódio, potássio e cloro)

<i>Cálcio</i>		<i>Proteínas</i>		<i>s-IgA</i>		<i>Amilase</i>	
Média	9,44	Média	166,48	Média	10,769	Média	151326,9
Mediana	4,8	Mediana	86,85	Mediana	8,645	Mediana	51385,5
Moda	#N/A	Moda	#N/A	Moda	#N/A	Moda	#N/A
Desvio-padrão	10,85	Desvio-padrão	236,80	Desvio-padrão	7,26	Desvio-padrão	258620,83
Variância	117,62	Variância	56072,60	Variância	52,65	Variância	66884732215
Kurtosis	2,369	Kurtosis	8,433	Kurtosis	-0,972	Kurtosis	7,840
Skewness	1,844	Skewness	2,830	Skewness	0,349	Skewness	2,7175
Mínimo	2,2	Mínimo	18,9	Mínimo	0,17	Mínimo	7
Máximo	34	Máximo	820,4	Máximo	22,6	Máximo	856900

Tabela 27: Análise descritiva dos componentes da saliva não estimulada após a radioterapia (cálcio, proteínas, s-IgA e amilase)

Na tabela seguinte os resultados para saliva estimulada após a radioterapia.

Processo	pH	Sódio (meq/L)	Potássio (meq/L)	Cloro (meq/L)	Cálcio (mg/dL)	Proteínas (mg/dL)	IgA (mg/dL)	Amilase (UI/L)
A	8	20	17	20	6,2	35,2	4,17	223399
B	7	20	4	20	2	27,4	0,39	8730
C	8	20	23	23	3,3	111,9	7,37	261616
D	6	20	24	49	10	57,5	41,2	108795
E	6	20	29	24	27,8	956,6	5	208713
F	6	20	8	20	2	79,2	17	47060
G	7	20	2	20	2,2	78,4	5,53	19719
H	8	20	20	20	4,7	43,2	3,22	56942
I	5	20	2	20	13,9	26,2	1,7	121
J	6	20	3	20	2	64,6	3,93	5

Tabela 28: Resultados laboratoriais dos componentes da saliva estimulada após a radioterapia

Aqui os valores assinalados a vermelho também foram valores assumidos. A deteção técnica não permitiu chegar a um valor concreto, devido ao pequeno volume das amostras, sendo que se assumiu o valor da média dos restantes valores.

Nas tabelas seguintes apresentam-se as análises descritivas para os resultados acima.

	<i>pH</i>		<i>Sódio</i>		<i>Potássio</i>		<i>Cloro</i>
Média	6,7	Média	20	Média	13,2	Média	23,6
Mediana	6,5	Mediana	20	Mediana	12,5	Mediana	20
Moda	6	Moda	20	Moda	2	Moda	20
Desvio-padrão	1,06	Desvio-padrão	0	Desvio-padrão	10,49	Desvio-padrão	9,05
Variância	1,12	Variância	0	Variância	109,96	Variância	81,82
Kurtosis	-1,238	Kurtosis	-	Kurtosis	-1,854	Kurtosis	9,268
Skewness	0,042	Skewness	-	Skewness	0,208	Skewness	3,013
Mínimo	5	Mínimo	20	Mínimo	2	Mínimo	20
Máximo	8	Máximo	20	Máximo	29	Máximo	49

Tabela 29: Análise descritiva dos componentes de saliva estimulada após radioterapia (pH, sódio, potássio e cloro)

	<i>Cálcio</i>		<i>Proteínas</i>		<i>s-IgA</i>		<i>Amilase</i>
Média	7,41	Média	148,02	Média	8,951	Média	93510
Mediana	4	Mediana	61,05	Mediana	4,585	Mediana	52001
Moda	2	Moda	#N/A	Moda	#N/A	Moda	#N/A
Desvio-padrão	8,20	Desvio-padrão	285,37	Desvio-padrão	12,21	Desvio-padrão	101230,44
Variância	67,25	Variância	81438,56	Variância	149,04	Variância	10247601505
Kurtosis	4,267	Kurtosis	9,756	Kurtosis	6,435	Kurtosis	-1,222
Skewness	2,030	Skewness	3,110	Skewness	2,482	Skewness	0,761
Mínimo	2	Mínimo	26,2	Mínimo	0,39	Mínimo	5
Máximo	27,8	Máximo	956,6	Máximo	41,2	Máximo	261616

Tabela 30: Análise descritiva dos componentes da saliva estimulada após radioterapia (cálcio, total de proteínas, s-IgA e amilase)

Pelos testes de Kurtosis e Skewness os valores de cloro, cálcio, proteínas e s-IgA apresentam curvas um pouco fora da normalidade.

4 - Discussão

Quanto ao fluxo salivar observou-se um aumento no não estimulado e uma diminuição no estimulado, como se pode verificar na tabela abaixo.

Fluxo	Antes	Depois	
Saliva Não Estimulada	0,52	0,58	Média
	0,21	0,44	Desvio-padrão
	0,33-1	0,18-1,33	Mínimo-Máximo
Saliva Estimulada	0,65	0,63	Média
	0,34	0,24	Desvio-padrão
	0,17-1,3	0,33-1,17	Mínimo-Máximo

Tabela 31: Comparação entre fluxos antes e após radioterapia quanto a saliva não estimulada e estimulada

Comparando com os resultados pré-radioterapia o fluxo não estimulado aumentou em 11,54% e o fluxo estimulado diminuiu em 3,23%. Apesar da pequena dimensão da amostra, os resultados sugerem que o dano causado pelo IMRT quanto à secreção salivar não se mostrou muito evidente, tal como sugerido por Hey, *et al.* (2011). Os resultados após seis meses não demonstraram diferenças significativas, pois de acordo com Dirix *et al.* (2006) considera-se significativo quando o fluxo salivar reduz para valores menores ou iguais a 25%. Porter *et al.* (2010) afirmam que a recuperação de alguma função é prevista entre os seis e os doze meses, o que também se pode sugerir que ocorreu neste estudo.

De acordo com Chao *et al.*, (2001) a dose de radiação que a parótida recebe é menor com a técnica IMRT, existindo correlação entre a dose recebida pela glândula e a redução de saliva estimulada, após 6 meses de radiação. Tal não se verifica para a saliva não estimulada.

Na tabela seguinte podemos observar a diferença de resultados quanto à xerostomia e fluxo salivar quando os doentes são sujeitos à técnica convencional ou a IMRT.

Estudos	n	Método RT	Resultados
Funegård, Franzén, Ericson, & Henriksson (1994)	16	Convencional	Diminuição do volume inicial salivar em 40%, durante o tratamento
			Restauração de 72% do volume inicial 18 meses após
Lal, et al. (2010)	36	Convencional	Fluxo salivar estimulado e não estimulado diminuem 1/4 do seu valor base
			Ocorrem melhorias no fluxo a partir dos 6 meses
Tiwana, et al. (2011)	53	Convencional	Diminuição significativa fluxo a 6 meses
			Xerostomia e 39% hipossalivação aos 6 meses
Braam, et al. (2006)	56	IMRT vs Convencional	Diminuição do fluxo estimulado a 6 meses em menor percentagem com IMRT
Kam, et al. (2007)	60	IMRT vs Convencional	Menor incidência de xerostomia severa em doentes tratados com IMRT e com tendência para melhorar 1 ano após RT
Nutting, et al. (2011)	94	IMRT vs Convencional	Grau 2 de xerostomia a 12 meses com menor incidência com IMRT

Tabela 32: Comparação entre estudos já realizados sobre o efeito de radioterapia convencional e/ou com IMRT e o seu efeito na xerostomia e fluxo salivar

Quanto ao uso de quimioterapia concomitante, Kałużny *et al.* (2014) reporta que este parece não influenciar diretamente o fluxo salivar estimulado (após 6 meses de radioterapia), contudo a dose tolerada nesta terapia conjunta diminuiu cerca de 7 a 8Gy. Dada a pequena dimensão da amostra deste estudo considerou-se mais prudente não a estratificar, no que diz respeito ao uso da quimioterapia, mas fica a sugestão para futuros trabalhos.

Sadri *et al.* (2011) observaram uma diminuição do fluxo após irradiação. Embora as células acinares e excretórias sejam altamente diferenciadas e apresentem *turn over* lento responderam de forma aguda à radiação. Estes autores atribuem a diminuição do fluxo à degeneração irreversível, que leva a fibrose e a dano membranar, que afeta a excreção de água. Considera-se que o IMRT, em comparação com a RT convencional, reduz o risco de dano no parênquima salivar, diminuindo assim o risco de xerostomia. Contudo, a percepção do doente pode não coincidir com o fluxo salivar observado (Daly-Schveitzer *et al.*, 2011).

Relativamente a valores de pH observou-se que, em média, se manteve neutro apesar de se notar uma ligeira descida (mais evidente em saliva estimulada). Por outro lado, a

capacidade-tampão desceu consideravelmente, não havendo reflexo aparente na descida de valores de pH.

pH	Antes	Depois	
Saliva Não Estimulada	6,7	6,2	Média
	1,49	1,32	Desvio-padrão
	3-8	4-8	Mínimo-Máximo
Saliva Estimulada	7,6	6,7	Média
	0,7	1,06	Desvio-padrão
	6-8	5-8	Mínimo-Máximo

Tabela 33: Comparação entre valores de pH antes e após a radioterapia para saliva não estimulada e estimulada

Vários autores constatarem diminuição de pH e redução da capacidade-tampão devido à diminuição de bicarbonato. O pH parece diminuir com a capacidade-tampão de forma sincronizada, e existe uma relação entre a redução de fluxo salivar e a capacidade-tampão e a radioterapia (Vissink *et al.*, 2003; Pontes *et al.*, 2004; Walsh, 2010; Sadri, Abdollahi, Tehrani, & Ghanbari 2011). Há ainda uma diminuição de bicarbonato e, conseqüentemente, da capacidade-tampão, bem como do pH e fosfato (Almståhl & Wikström, 2003). Neste estudo não existem evidências da toxicidade do IMRT no pH salivar.

Segundo Vissink *et al.* (2003) o pH diminui de 7.0 para 5.0 após irradiação. Tiwana *et al.* (2011) constatarem que o pH é ácido após início da RT, torna-se alcalino aos 3 meses e aumenta entre as 6 semanas e os 6 meses de tratamento, voltando ao valor neutro inicial.

Quanto ao total de proteínas notou-se um aumento para os dois tipos de saliva, como se verifica na tabela 33.

Proteínas	Antes	Depois	
Saliva Não Estimulada	137,02	166,48	Média
	103,32	236,8	Desvio-padrão
	46,1-343,8	18,9-820,4	Mínimo-Máximo
Saliva Estimulada	129	148,02	Média
	104,99	285,37	Desvio-padrão
	38,2-370,2	26,2-956,6	Mínimo-Máximo

Tabela 34: Comparação entre o total de proteínas antes e após a radioterapia para saliva não estimulada e estimulada

A análise proteica na saliva é essencial para a deteção de potenciais biomarcadores do cancro oral de células escamosas. A oncogénese é influenciada por fatores génicos que se encontram alterados, sendo que o estudo da expressão génica (as proteínas) é um meio que poderá permitir um entendimento molecular das neoplasias. O estudo destes componentes já permitiu avanços na descoberta de biomarcadores salivares para o cancro oral, utilizando técnicas laboratoriais mais avançadas e complexas (imuno-ensaios, p.e.) (Hu, *et al.*, 2008). Neste estudo apenas se estudou a concentração do proteoma total que aumentou seis meses após a radioterapia. Sugerem-se duas hipóteses para esta alteração: a ocorrência de uma desregulação do sistema nervoso (aumento dos estímulos simpáticos, p.e.) ou uma inibição transitória da secreção celular provocada pelos tratamentos, sem que tenha havido destruição total do parênquima glandular, que ao recuperar ao fim de seis meses aumenta a secreção.

Estes resultados são contrários ao estudo de Valdez *et al.* (1992), em que o valor total de proteínas diminuiu significativamente, quando comparado com o grupo de controlo. Também no estudo de Tiwana *et al.* (2011) as proteínas diminuíram. No entanto, de acordo com Pontes *et al.* (2004) não se verificaram alterações no total proteico. A diferença entre resultados pode ser devida à utilização de radioterapia convencional, em vez de IMRT e pelo facto de ser utilizado um grupo de controlo saudável, em vez dos valores iniciais dos doentes. A comparação entre valores iniciais dos doentes é realizada por Funegård *et al.* (1994), que mesmo utilizando radioterapia convencional, também observou um aumento ligeiro no total proteico após seis meses de radioterapia. Sadri *et al.* (2011) também observaram um aumento proteico, embora não significativo.

Quanto à amilase observou-se uma diminuição dos seus valores para os dois tipos de saliva.

Amilase	Antes	Depois	
Saliva Não Estimulada	204873	151327	Média
	227810	258621	Desvio-padrão
	54814-799100	7-856900	Mínimo-Máximo
Saliva Estimulada	158329	93510	Média
	122380	101230	Desvio-padrão
	3983-402328	5-261,616	Mínimo-Máximo

Tabela 35: Comparação entre valores de amilase antes e após a radioterapia para saliva não estimulada e estimulada

A evidência da diminuição de valores da amilase salivar está de acordo com os resultados obtidos em diversos estudos (Funegård *et al.*, 1994; Vissink *et al.*, 1996; Pontes *et al.*, 2004). Também foi encontrada evidência igual numa revisão realizada por Bhide *et al.* (2009), na qual se constata um aumento da amilase plasmática e uma diminuição da amilase salivar que pode estar relacionada com a perda progressiva de células serosas. O facto de se verificar um aumento no total de proteínas e uma diminuição na concentração da amilase, poderá sugerir que a radioterapia apenas afeta seletivamente algumas proteínas (Funegård *et al.*, 1994). Quanto a Tiwana, *et al.* (2011) reportam uma diminuição da amilase aos três meses e um aumento aos seis.

A diminuição da capacidade-tampão pode estar relacionada com a diminuição da concentração de amilase, com base em Cheaib & Lussi (2013), que atribuem um papel principal a esta proteína. De acordo com Sadri *et al.* (2011) a amilase é considerada um meio para o estudo da funcionalidade das células serosas. Assim sendo, os ácinos das glândulas parótidas mostram-se mais sensíveis e poderão justificar os baixos valores. No entanto também podemos justificar estes valores pela diminuição do *intake* alimentar.

Relativamente a valores de s-IgA observou-se uma diminuição acentuada para os dois tipos de saliva.

<u>s-IgA</u>	Antes	Depois	
Saliva Não Estimulada	17,8	10,8	Média
	10,33	7,26	Desvio-padrão
	6,91-36,6	0,17-22,6	Mínimo-Máximo
Saliva Estimulada	13,56	8,95	Média
	10,06	12,21	Desvio-padrão
	3-37,8	0,39-41,2	Mínimo-Máximo

Tabela 36: Comparação entre valores de s-IgA antes e após radioterapia para saliva não estimulada e estimulada

Os resultados deste estudo não estão de acordo com outros realizados. Todos os descritos constataam um aumento da sua concentração (Brown *et al.*, 1975; Funegård *et al.*, 1994; Himi *et al.*, 1997) e sugerem que os valores altos de IgA se devem a danos tecidulares na mucosa oral, que levam a uma transferência de IgA plasmática para a saliva ou que a alteração desta imunoglobulina poderá sugerir uma alteração da microflora normal da orofaringe.

Apenas Vissink *et al.* (1996) obtiveram uma diminuição nesta imunoglobulina.

A sua diminuição pode sugerir diminuição da sua produção por parte de um sistema imunitário danificado devido às terapias oncológicas. De acordo com Sadri *et al.* (2011) a diminuição de s-IgA está relacionada com a modificação da sua secreção devido à influência da radiação no sistema ductal, nos linfócitos e nas células epiteliais, alterando a transudação.

Quanto a valores de eletrólitos:

- O sódio aumentou;
- O potássio diminuiu;
- O cloro diminuiu;
- O cálcio aumentou para os dois tipos de saliva, porém com uma diferença mais notória para saliva não estimulada.

<u>Sódio</u>	Antes	Depois	
<i>Saliva Não Estimulada</i>	21,8	21	Média
	5,03	2,49	Desvio-padrão
	20-36	20	Mínimo-Máximo
<i>Saliva Estimulada</i>	20	20	Média
	0	0	Desvio-padrão
	20	20	Mínimo-Máximo

Tabela 37: Comparação entre valores de sódio antes e após radioterapia para saliva não estimulada e estimulada

Devido a problemas técnicos laboratoriais não se pôde avaliar a toxicidade salivar pelos níveis de sódio. A sensibilidade do equipamento utilizado não permitia obter resultados menores do que 20 e todos os resultados das amostras apresentavam esse valor. Assim sendo, consideraram-se todos os resultados iguais a 20 (à exceção daqueles em que o volume da amostra era demasiado pequeno, assumindo-se o valor da média). Sendo assim, os resultados não podem ser discutidos pois não existe a percepção de aumento ou diminuição de valores dado que todos os valores são iguais (como para saliva estimulada) ou apenas varia um valor (como para saliva não estimulada).

<u>Potássio</u>	Antes	Depois	
Saliva Não Estimulada	27,3	15,8	Média
	9,82	10,61	Desvio-padrão
	18-52	4-32	Mínimo-Máximo
Saliva Estimulada	22,2	13,2	Média
	6,66	10,49	Desvio-padrão
	11-36	2-29	Mínimo-Máximo

Tabela 38: Comparação entre valores de potássio antes e após radioterapia para saliva não estimulada e estimulada

Relativamente à descida do potássio, tal não ocorre nos estudos de Funegård *et al.* (1994) e Almståhl & Wikström (2003) que reportam valores semelhantes aos iniciais e um aumento, respetivamente. A descida que ocorreu poderá ser explicada pelo dano causado ao sistema ductal, que em vez de adicionar potássio à saliva primária, não o concretiza.

<u>Cloro</u>	Antes	Depois	
Saliva Não Estimulada	31,4	24,7	Média
	11,93	10,59	Desvio-padrão
	20-49	20-50	Mínimo-Máximo
Saliva Estimulada	24,4	23,6	Média
	5,7	12,32	Desvio-padrão
	20-34	20-50	Mínimo-Máximo

Tabela 39: Comparação entre valores de cloro antes e após radioterapia para saliva não estimulada e estimulada

Relativamente aos resultados de valores de cloro, também Tiwana *et al.* (2011) reportam uma descida no cloro três meses após a radioterapia e uma recuperação desses valores após seis meses.

Um aumento de sódio e cloro está relacionado com uma reabsorção ductal danificada, pois as glândulas salivares quando irradiadas apresentam inflamação periductal (Valdez *et al.*, 1992) ou com um aumento da passagem do sódio existente no plasma para a saliva (Almståhl & Wikström, 2003).

A descida do cloro pode sugerir que a toxicidade ductal não é evidente após IMRT.

<u>Cálcio</u>	Antes	Depois	
Saliva Não Estimulada	6,39	9,44	Média
	3,86	10,85	Desvio-padrão
	3-14,4	2,2-34	Mínimo-Máximo
Saliva Estimulada	7,36	7,41	Média
	5,36	8,2	Desvio-padrão
	3,2-20	2-27,8	Mínimo-Máximo

Tabela 40: Comparação entre valores de cálcio antes e após radioterapia para saliva não estimulada e estimulada

Relativamente aos resultados de cálcio estão em concordância com outros estudos (Valdez *et al.*, 1992; Almståhl & Wikström, 2003). No entanto, Funegård *et al.* (1994) reportam descidas do cálcio após um ano de radioterapia. O aumento de cálcio ocorrido poderá estar relacionado com o dano acrescido às glândulas parótidas. Isto porque, se de facto este ocorre, a glândula submandibular fica a principal responsável pela secreção de saliva estimulada. Como esta glândula apresenta maiores concentrações de cálcio, isto poderá explicar o aumento da sua concentração (Almståhl & Wikström, 2003).

Este estudo aglomera o doseamento e a análise de vários componentes salivares, numa tentativa de os relacionar com o efeito do método *standard* da radioterapia (IMRT), para cancro de cabeça e pescoço, com as alterações qualitativas e quantitativas que podem ocorrer. Apesar da amostra pequena, das limitações técnicas, da não estandardização da localização das neoplasias e do estadiamento, alguns resultados estão de acordo com outros estudos realizado e poderão ser utilizados em futuras investigações.

5 - Conclusão

Apesar das melhorias significativas no fluxo salivar e na severidade de xerostomia, a técnica IMRT continua a provocar algumas alterações qualitativas que se podem manifestar na modificação das funções salivares.

O estado da arte do estudo da toxicidade salivar foca-se sobretudo na avaliação da xerostomia e sialometria, remetendo para o estado da função glandular. Algumas investigações também se focaram no estudo da sialoquímica em conjunto com a sialometria, mas para radioterapia convencional.

Os resultados neste estudo após seis meses mostram:

- Aumento do fluxo não estimulado e uma pequena diminuição do fluxo estimulado, o que pode demonstrar que a secreção de água não terá sido muito afetada.
- Diminuição do pH, contudo mantendo-se neutro.
- Descida considerável da capacidade-tampão, parecendo não afetar de forma significativa a descida do pH.
- Aumento do total de proteínas poderá estar relacionado com um problema de desregulação de estimulação, por parte do sistema nervoso autónomo. Também poderá estar associado a uma inibição celular ocorrida durante o tratamento, sendo que após a recuperação do parênquima a produção destes componentes aumente.
- Diminuição da amilase é associada a uma diminuição da capacidade-tampão, pela qual esta proteína também é responsável e é considerada um meio para o estudo da funcionalidade das células serosas, sendo que a sua alteração poderá sugerir dano celular
- Diminuição da s-IgA o que pode sugerir dano na sua produção, pelo sistema imune ou no seu transporte para a saliva (ductos).
- Os valores de sódio não permitiram avaliações devido a limitações técnicas.
- Diminuição de cloro o que pode sugerir algum dano causado ou o início da recuperação da função.

- Aumento de cálcio o que poderá sugerir maior sensibilidade das glândulas parótidas.

Embora este estudo seja limitado, os resultados parecem sugerir um padrão de pouca toxicidade, quando comparados os efeitos em doentes sujeitos à técnica convencional. Um ou mais estudos de casuística ampla deverão ser realizados para aquisição de relevância estatística plena. O IMRT demonstra ser um avanço significativo, mas não definitivo, nas opções de técnicas de radioterapia. As consequências tóxicas irão sempre depender do mapeamento realizado, pelo que existe sempre a possibilidade de erros e diferenças entre os técnicos que realizam os exames. Uma média de resultados de um estudo multicêntrico iria consequentemente ampliar a casuística essencial para avaliação das consequências tóxicas.

Seguem-se algumas ideias para trabalhos futuros que possam seguir este estudo e sugestões para realização de outras análises.

- Estudo com maior amostragem.
- Estandarização quanto ao local da neoplasia, estadiamento e dose total recebida.
- Estudo de outros componentes, utilizando análises microbiológicas ou uma discriminativas quanto às proteínas salivares.
- Estudo dos graus de mucosite e xerostomia instalados com a introdução de questionários de qualidade de vida, de forma a poder interligar o aspeto subjetivo com a informação objetiva.
- Introdução de uma avaliação do estado de saúde oral ao longo das recolhas.
- Estudo dos mesmos parâmetros para outras terapias, como quimioterapia adjuvante ou bioterapia.

6 - Referências Bibliográficas

Procuraram-se referências bibliográficas dos últimos cinco anos, apenas por motivos históricos e de enquadramento decidiu-se utilizar referências anteriores a essas datas.

Almståhl, A., & Wikström, M. (2003). Electrolytes in stimulated whole saliva in individuals with hyposalivation of different origins. *Archives of Oral Biology* , 48, 337-344.

Andrews, N., & Griffiths, C. (2001). Dental complications of head and neck radiotherapy: Part 1. *Australian Dental Journal*, 46(2), 88-94

Aps, J.K.M., & Martens, L.C. (2005). Review: The physiology of saliva and transfer of drugs into saliva. *Forensic Science International*, 150(2), 119-131

Argiris, A., Karamouzis, M.V., Raben, D., & Ferris, R.L. (2008). Head and neck cancer. *Lancet*, 371, 1695-1709

Arhakis, A., Karagiannis, V., & Kalfas, S. (2013). Salivary Alpha-Amylase Activity and Salivary Flow Rate in Young Adults. *The Open Dentistry Journal*, 7, 7-15

Atance, J. A. (1996). La saliva. In J. A. Atance, *Bioquímica Bucodental* (pp. 217-232). Madrid: Editorial Síntesis

Betioli, J., Villa, L., & Schiero, L. (2013). Impact of HPV infection on the development of head and neck cancer. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* , 46, 217-226.

Bhide, S.A, Miah, A.B., Harrington, K.J., Newbold, K.L., & Nutting, C.M. (2009). Radiation-induced Xerostomia: Patophysiology, Prevention and Treatment. *Clinical Oncology*, 21, 737-744

Bhide, S., & Nutting, C. (2010). Advances in radiotherapy for head and neck cancer. *Oral Oncology* , 46, 439-441.

Bhosle, J., & Hall, G. (2009). Principles of cancer treatment by chemotherapy. *Surgery (Oxford)* , 27 (4), 173-177.

Braam, P., Terhaard, C., Roesink, J., & Raaijmakers, C. (2006). Intensity-Modulated Radiotherapy significantly reduces Xerostomia compared to Conventional Radiotherapy. *International Journal of Radiation Biology Physics* , 66 (4), 975-980.

- Brown, A.M., Lally, E.D., Frankel, A., Harwick, R., Davis, L.W., & Rominger, C.J. (1975). The Association of the IgA Levels of Serum and Whole Saliva with the Progression of Oral Cancer. *Cancer*, 35, 1154-1162
- Brundage, D. (2010). Cancer Chemotherapy and Treatment. In M. A. Chislom-Burns, T. Schwinghammer, B. G. Wells, P. M. Malom, J. M. Kolesar, & J. T. Dipiro, *Pharmacotherapy: Principles & Practice* (pp. 1445-1473). Nova Iorque: McGraw-Hill Companies Inc.
- Campos, M., Campos, C., Aarestup, F., & Aarestup, B. (2014). Oral mucositis in cancer treatment: Natural history, prevention and treatment (review). *Molecular and Clinical Oncology* , 2, 337-340.
- Carpenter, G. (2013). The secretion, components, and properties of saliva. *Annual review of food science and technology* , 4, 267-276.
- Chao, K.S., Deasy, J.O., Markman, J., Haynie, J., Perez, C.A., Purdy, J.A., & Low, D.A. (2001). A Prospective Study of Salivary Function Sparing in patients receiving Intensity-Modulated or Three-Dimensional Radiation Therapy: Initial Results. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, 49(4), 907-916
- Chaveli-López, B. (2014). Oral toxicity produced by chemotherapy: A systematic review. *Journal of clinical and experimental dentistry* , 6 (1), e81-e90.
- Cheaib, Z., Lussi, A. (2013). Role of amylase, mucin, IgA and albumin on salivary protein buffering capacity: A pilot study. *Journal of Biosciences*, 38(2), 259-265
- Common Terminology Criteria for Adverse Effects. (14 de Junho de 2010). *Common Terminology Criteria for Adverse Effects v4.03*. Obtido em 28 de Julho de 2014, de CTCAE: http://evs.nci.nih.gov/ftp1/CTCAE/CTCAE_4.03_2010-06-14_QuickReference_8.5x11.pdf
- Coppes, R., & Stokman, M. (2011). Stem cells and the repair of radiation-induced salivary gland damage. *Oral Diseases* , 17, 143–153.
- Cuevas-Córdoba, B., & Santiago-García, J. (2014). Saliva: A Fluid of Study for OMICS. *OMICS A Journal of Integrative Biology* , 18 (2), 87-97.
- Daly-Schveitzer, N., Juliéron, M., Gan Tao, Y., Moussier, A., & Bourhis, J. (2011). Intensity-modulated radiation therapy (IMRT): Toward a new standard for radiation

therapy of head and neck cancer? *European Annals of Otorhinolaryngology, Head and Neck diseases* , 128, 241-247.

Dawes, C., Pedersen, A., Villa, A., Ekstrom, J., Proctor, G., Vissink, A., et al. (2015). The functions of human saliva: A review sponsored by the World Workshop of Oral Medicine IV. *Archives of Oral Biology* , 60, 863-874.

Deboni, A., Giordani, A., Lopes, N., Dias, R., Segreto, R., Jensen, S., et al., (2012). Long-term effects in patients treated with radiochemotherapy for head and neck cancer. *Supportive Care Cancer* , 20 (11), 2903-2911.

Dieterich, S., & Gibbs, I. (2011). The CyberKnife in Clinical Use: Current Roles, Future Expectations. *Frontiers of Radiation Therapy and Oncology* , 83, 181-194.

Dirix, P., Nuyts, S., & Van den Bogaert, W. (2006). Radiation-Induced Xerostomia in Patients With Head and Neck Cancer. *American Cancer Society* , 107 (11), 2525-2534.

Dodds, M.W.J., Johnson, D.A., & Yeh, C.K. (2005). Health benefits of saliva: a review. *Journal of Dentistry*, 33(3), 223-233

Dorsey, K., & Agulnik, M. (2013). Promising New Molecular Targeted Therapies in Head and Neck Cancer. *Drugs* , 73, 315-325.

Epstein, J.B., Thariat, J., Bensadoun, R.J., Barasch, A., Murphy, B.A., Kolnick, L., Popplewell, L., & Maghami, E. (2012). Oral Complications of Cancer and Cancer Therapy: From Cancer Treatment to Survivorship. *A Cancer Journal for Clinicians*, 62(6), pp. 400-422

Falcão, D. P., Mota, L. M., Pires, A. L., & Bezerra, A. B. (2013). Sialometry: aspects of clinical interest. *Revista Brasileira de Reumatologia*, 53 (6), 525-531.

Funegård, U., Franzén, L., Ericson, T., & Henriksson, R. (1994). Parotid saliva composition during and after irradiation of head and neck cancer. *Oral Oncology European Journal Cancer* , 30B (4), 230-233.

Hey, J., Setz, J., Gerlach, R., Janich, M., Hildebrandt, G., Vordermark, D., et al., (2011). Parotid gland-recovery after radiotherapy in the head and neck region - 36 months follow-up of a prospective clinical study. *Radiation Oncology* , 6, 1-8.

- Himi, T., Kukkuminato, Y., Kita, H., Yoshioka, I., & Kataura, A. (1997). Effect of radiotherapy on the levels of secretory immunoglobulin A against indigenous and virulent streptococci. *Otolaryngology, Head Neck Surgery*, 117(5), 433-437
- Hocł, D. G. (2013). Toxic Effect of Radiation and Radioactive Materials. In C. D. Klaassen, *Casarett & Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons* (pp. 1113-1129). Nova Iorque: McGraw-Hill .
- Hu, S., Arellano, M., Boonthung, P., Wang, J., Zhou, A., Jiang, J., et al. (2008). Salivary Proteomics for Oral Cancer Biomarkers Discovery. *Clinical Cancer Research* , 14 (19), 6246-6252.
- Huang, S., & O'Sullivan, B. (2013). Oral cancer: Current role of radiotherapy and chemotherapy. *Medicina Oral Patología Oral Cirugía Bucal*, 18(2), e233-e240.
- Humphrey, S.P., & Williamson, R.T. (2001). A review of saliva: Normal composition, flow and function. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 85, 162-169.
- Hunter, K., Parkinson, E., & Thakker, N. (2011). An overview of the molecular pathology of head and neck cancer, and its clinical implications. *Periodontology 2000* , 57 (1), 132-149.
- Hupp, J., Ellis III, E., & Tucker, M. (2009). *Cirurgia Oral e Maxilofacial Contemporânea*. Elsevier.
- Jham, B. C., & Freire, A. R. (2006). Oral complications of radiotherapy in the head and neck . *Revista Brasileira Otorrinolaringologia* , 72 (5), 704-708.
- Jones, A. (2004). The molecular cell biology of head and neck with clinical applications. Section 1: Fundamental biology and the basis of cancer. *Clinical Otolaryngology* , 29 (5), 475-491.
- Kałużny, J., Wierzbicka, M., Nogala, H., Milecki, P., & Kopeć, T. (2014). Radiotherapy induced xerostomia: Mechanisms, prevention and treatment - evidence based up to 2013. *Otolaryngologia Polska* , 68, 1-14.
- Kam, M., Leung, S., Zee, B., Chau, R., Suen, J., Mo, M., et al. (2007). Prospective randomized study of Intensity-Modulated Radiotherapy on Salivary Gland Function in Early-Stage Nasopharyngeal Carcinoma Patients. *Journal of Clinical Oncology* , 25 (31), 4873-4879.

- Kielbassa, A. M., Hinkelbein, W., Hellwig, E., & Meyer-Lückel, H. (2006). Radiation-related damage to dentition. *Lancet Oncology* , 7, 326-335.
- Konings, A. W., Coppes, R. P., & Vissink, A. (2005). On the Mechanism of Salivary Gland Radiosensitivity. *Int. J. Radiation Oncology, Biology, Physics* , 62 (4), 1187–1194.
- Lafaurie, G., Fedele, S., López, R., Wolff, A., Strietzel, F., Porter, S., *et al.*, (2009). Biotechnological advances in neuro-electro-stimulation for the treatment of hyposalivation and xerostomia. *Medicina Oral, Patologia Oral y Cirugia Bucal* , 14 (2), E76-80.
- Lal, P., Bajpai, R., Khurana, R., Maria Das, K., Kumar, P., Tiwari, A., *et al.*, (2010). Changes in salivary flow rates in head and neck cancer after chemoradiotherapy. *Journal of Cancer Research and Therapeutics* , 6 (4), 458-462.
- Lalla, R., Saunders, D., & Peterson, D. (2014). Chemotherapy or Radiation-Induced Oral Mucositis. *Dental Clinics of North America* , 58 (2), 341-349.
- Lamont, R.J., Burne, R.A., Lantz, M.S., Leblanc, D.J. (2006). *Oral Microbiology and Immunology*. Washington D.C.: ASM Press
- Lee, I., Koom, W., Lee, C., Kim, Y., Yoo, S., Keum, K., *et al.* (2009). Risk factors and dose-effect relationship for mandibular osteoradionecrosis in oral and oropharyngeal cancer patients. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics* , 75 (4), 1084-1091.
- Liu, H., Dong, W., Wang, J., Wang, T., Hu, P., Wei, S., Ye, L., & Wang, Q. (2013). Association between salivary α -amylase activity and pain relief scale scores in cancer patients with bone metastases treated with radiotherapy. *Chinese Medicine Journal* , 126(23), 4444-4447.
- Logan, M. R. (2009). Advances in understanding of toxicities of treatment for head and neck cancer. *Oral Oncology* , 45, 844–848.
- Malamud, D. (2011). Saliva as a Diagnostic Fluid. *Dental Clinics of North America* , 55, 159-178.

- Marta, G., Silva, V., Carvalho, H., Arruda, F., Hanna, S., Gadia, R., *et al.*, (2014). Intensity-modulated radiation therapy for head and neck cancer: Systematic review and meta-analysis. *Radiotherapy and Oncology* , 110, 9-15.
- Misch, C. (2007). *Contemporary Implant Dentistry*. Canada: Mosby Elsevier.
- Monteiro, L., Antunes, L., Bento, M., & Warnakulasuriya, S. (2013). Incidence rates and trends of lip, oral and oro-pharyngeal cancers in Portugal. *Oral Pathology and Medicine* , 42, 345-351.
- Nagler, R.M. (2002). The enigmatic mechanism of irradiation-induced damage to the major salivary glands. *Oral Diseases*, 8, 141-146
- Navazesh, M., & Kumar, S. K. (2008). Measuring salivary flow: Challenges and opportunities. *The Journal of the American Dental Association* , 139, 35S-40S.
- Neyraud, E., Bult, J. H., & Dransfield, E. (2009). Continuous analysis of parotid saliva during resting and short-duration stimulated chewing. *Archives of Oral Biology* , 54, 449-456.
- Nutting, C., Morden, J., Harrington, K., Urbanoc, G., Bhide, S., Clarkd, C., *et al.* (2011). Parotid-sparing intensity modulated versus conventional radiotherapy in head and neck cancer (PASPORT): a phase 3 multicentre randomised controlled trial. *Lancet Oncology* , 12, 127-136.
- Olshan, A. (2010), *Epidemiology, Pathogenesis and Prevention of Head and Neck Cancer* (pp. 1-211). Nova Iorque: Springer.
- O'Dwyen, K. M., & Frattini, M. G. (2009). Principles of Neoplasia. In M. D. Stubblefield, & M. W. O'Dell, *Cancer rehabilitation: principles and practice* (pp. 11-21). Nova Iorque: Demos Medical.
- Patel, S. G., & Shah, J. (2005). TNM Staging of Cancers of the Head and Neck: Striving for Uniformity Among Diversity. *Cancer Journal for Clinicians* , 55, 242-258.
- Pecorino, L. (2012). *Molecular biology of cancer: mechanisms, targets and therapeutics* (3rd edition). Oxford: Oxford University Press.

- Pontes, C., Polizello, A., & Spadaro, A. C. (2004). Clinical and biochemical evaluation of the saliva of patients with xerostomia induced by radiotherapy. *Brazilian Oral Research* , 18 (1), 69-74.
- Porter, S., Fedele, S., & Habbab, K. M. (2010). Xerostomia in head and neck malignancy. *Oral Oncology* , 46, 460–463.
- Proctor, G.B., & Carpenter, G.H. (2007). Regulation of salivary gland function by autonomic nerves. *Autonomic Neuroscience: Basis and Clinical*, 133, 3-18
- Punyadeera, C. (2013). Saliva: An Alternative Biological Fluid for Clinical Applications. *Journal of Dento-Medical Science and Research*, 1(1), 2-4
- Rouvière, H., & Delmas, A. (1988). *Anatomía Humana: Descriptiva, Topográfica y Funcional. Tomo 1: Cabeza y Cuelllo*. Paris: Masson.
- Sadri, D., Abdollahi, A., Tehrani, Z., & Ghanbari, S. (2011). Effect of Head and Neck Radiotherapy on Saliva Biochemical Indicators. *International Journal of Oral and Maxillofacial Pathology* , 2 (4), 11-15.
- Sagowski, C., Wenzel, S., Tesche, S., Jenicke, L., & Jaehne, M. (2003). Investigation of radiosialadenitis during fractioned irradiation: sialoscintigraphical and histomorphological findings in rats. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 260(9), 513-517
- Schenkels, L. C., Veerman, E. C., & Amerongen, A. V. (1995). Biochemical Composition of Human Saliva in Relation to Other Mucosal Fluids. *Crit Rev Oral Biol Med* , 6 (2), 161-175.
- Schipper, R. G., Silletti , E., & Vingerhoeds, M. H. (2007). Saliva as research material: Biochemical, physicochemical and practical aspects. *Archives of Oral Biology* , 52, 1114–1135.
- Scully, C. (2011). Oral cancer aetiopathogenesis; past, present and future. *Medicina Oral Patología Oral Cirugía Bucal*, 16(3), e306-11
- Sood, A. J., Fox, N. F., O'Connel, B. P., Lovelace, T. L., Nguyen, S. A., Sharma, A. K., et al., (2014). Salivary gland transfer to prevent radiation-induced xerostomia: A systematic review and meta-analysis. *Oral Oncology* , 50, 77-83.

Taibi, R., Lleishi, A., Barzan, L., Fiorica, F., Leghissa, M., Vacher, E., et al. (2014). Head and neck survivors patients and late effects related to oncologic treatment: Update of literature. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* , 18, 1473-1481.

Tatsuyama, K., Maezawa, Y., Baba, H., Imamura, Y., & Fukuda, M. (2000). Expression of various growth factors for cell proliferation and cytodifferentiation during fracture repair of bone. *European Journal of Histochemics* , 44 (3), 269-278.

Teoh, M., Clark, C. H., Wood, K., Whitaker, S., & Nisbet, A. (2011). Volumetric modulated arc therapy: a review of current literature and clinical use in practice. *The British Journal of Radiology* , 84, 967–996.

Tiwana, M., Mahajan, M., Uppal, B., Koshy, G., Sachdeva, J., Lee, H., et al., (2011). Whole saliva physico-biochemical changes and quality of life in head and neck cancer patients following conventional radiation therapy: A prospective longitudinal study. *Indian Journal Cancer* , 48 (3), 289-295.

Trott, K. R., Doerr, W., Facoetti, A., Hopewell, J., Langendijk, J., Luijk, P., et al., (2012). Biological mechanisms of normal tissue damage: Importance for the design of NTCP models. *Radiotherapy and Oncology* , 105, 79-85.

Tucker, A.S. (2007). Salivary gland development. *Seminars in Cell & Development Biology*, 18, 237-244

Ureña, J. L., & Pérez, A. C. (2005). Saliva y placa bacteriana. In E. C. Cuenca, & P. B. García, *Odontología preventiva y comunitaria* (3ª ed., pp. 41-61). Barcelona: ELSEVIER MASSON.

Valdez, I.H., Atkinson, J.C., Ship, J.A., & Fox, P.C. (1992). Major Salivary Gland Function in Patients with Radiation-Induced Xerostomia: Flow Rates and Sialochemistry. *International Journal Radiation Oncology, Biology, Physics*, 25, 41-47

Van Gestel, D., Verellen, D., Van de Voorde, L., de Ost, B., de Kenf, G., Vanderveken, O., et al. (2013). The potential of Helical Tomotherapy in the Treatment of Head and Neck Cancer. *The Oncologist* , 18, 697-706.

- Vissink, A., Jansma, J., Spijkervet, F.K.L., Burlage, F.R., Coppes, R.P. (2003). Oral Sequelae of Head and Neck Radiotherapy. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 14(3), 199-212
- Vissink, A., Mitchell, J., Baum, B., Limesand, K., Jensen, S., Fox, P., *et al.*, (2010). Clinical Management of Salivary Gland Hypofunction and Xerostomia in Head-and-Neck Cancer Patients: Success and Barriers. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 78 (4), 983-991.
- Vissink, A., Spijkervet, F. K., & Amerongen, A. V. (1996). Aging and saliva: A review of the literature. *Special Care in Dentistry*, 16 (3), 95-103.
- Vissink, A., van Luijk, P., Langendijk, J., & Coppes, R. (2014). Current ideas to reduce or salvage radiation damage to salivary glands. *Oral Diseases*, 1-10.
- Walsh, L.J. (2010). Clinical assessment and management of the oral environment in the oncology patient. *Australian Dental Journal*, 55, 66-77
- Waterman, H.A., Blom, C., Holterman, H.J., Gravenmade, E.J., & Mellema, J. (1988). Rheological Properties of Human Saliva. *Archives Oral Biology*, 33(8), 589-596
- Watters, A. J., Epstein, J. B., & Agulnik, M. (2011). Oral complications of targeted cancer therapies: A narrative literature review. *Oral Oncology*, 47, 441-448.
- WHO. (s.d.). World Health Organization. Obtido em 2014 de 2 de 2014, de Cancer: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>
- Wittekind, C., Greene, F., Hutter, R., Klimpfinger, M., & Sobin, L. (2005). Tumeurs de la tête et du cou. In C. Wittekind, F. Greene, R. Hutter, M. Klimpfinger, & L. Sobin, *TNM Atlas: Guide illustré de la classification TNM/pTNM des tumeurs malignes (French Edition)* (pp. 11-59). Nova Iorque: Springer - Velgar.
- Zaura, E., Nicu, E., Krom, B., & Keijser, B. (2014). Acquiring and maintaining a normal oral microbiome: current perspective. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 4, 1-8.

Anexos

Anexo 1- Classificação TNM do cancro na cavidade oral e lábios

Quanto **ao tamanho e extensão** do tumor (T):

Tx: tumor primário não pode ser avaliado

Tis: Carcinoma *in situ*

T1: tumor com tamanho maior ou igual a 2 cm, na sua maior dimensão

T2: tumor com tamanho entre 2 e 4 cm, na sua maior dimensão

T3: tumor com tamanho maior do que 4 cm, na sua maior dimensão

T4a - Lábios: tumor invasivo, afetando a cortical óssea, o nervo dentário inferior, o pavimento da boca ou a pele do mento ou do nariz

- Cavidade Oral: tumor invasivo, afetando a cortical óssea, os músculos profundos/extrínsecos da língua (genioglosso, hioglosso, palatoglosso, estiloglosso), o seio maxilar ou a pele da face

T4b (Lábios e Cavidade Oral): tumor invasivo, afetando o espaço mastigatório, a asa interna da apófise pterigoide, a base do crânio ou engloba a artéria carótida interna.

Quanto ao **número e localização de gânglios** linfáticos afetados (N):

Nx: Gânglios linfáticos regionais não podem ser avaliados

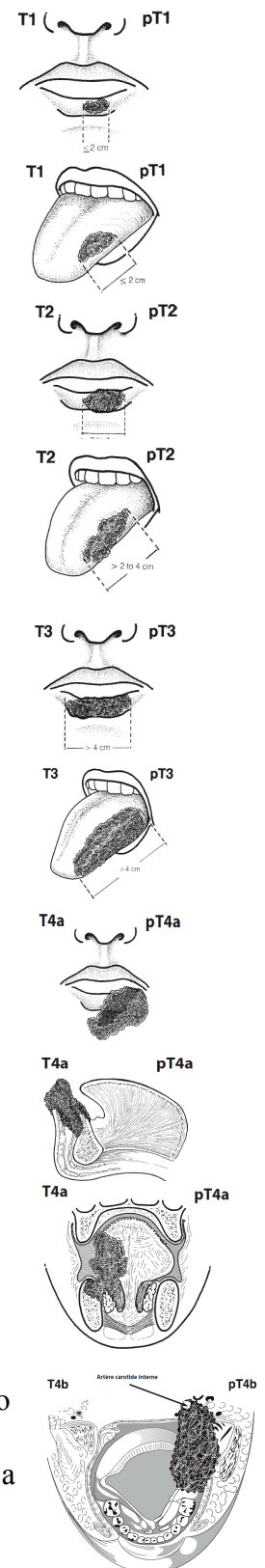
N1: Afetação de um gânglio unilateral menor ou igual a 3cm, na sua maior dimensão

N2a: Adenopatia metastática unilateral entre 3 e 6cm, na sua maior dimensão

N2b: Adenopatias metastáticas homolaterais múltiplas menores ou iguais a 6cm, nas suas maiores dimensões

N2c: Adenopatias metastáticas bilaterais ou contralaterais menores ou iguais a 6cm, nas suas maiores dimensões

N3: Adenopatias metastáticas maiores do que 6cm



Quanto às **metástases** (M):

M0: Sem metástases distantes

M1: Com metástases distantes

Estadiamento (TNM):

0: Tis N0 M0

I: T1 N0 M0

II: T2 N0 M0

III: T3 N0 M0; T2 N0 M0; T1 N0 M0

IV-A: T4a N0 M0; T4a N1 M0; T1 N2 M0; T2 N2 M0; T3 N2 M0

IV-B: Qualquer T N3 M0; T4b Qualquer N M0

IV-C: Qualquer T Qualquer N M1

Anexo 2– Classificação TNM de cancro faríngeo

Orofaringe

Quanto ao **tamanho e extensão** do tumor (T):

T1: tumor com tamanho maior ou igual a 2 cm, na sua maior dimensão

T2: tumor com tamanho entre 2 e 4 cm, na sua maior dimensão

T3: tumor com tamanho maior do que 4 cm, na sua maior dimensão

T4a: tumor invade uma das seguintes estruturas: laringe; músculos profundos/extrínsecos da língua; músculo pterigoide interno; palato duro ou maxilar

T4b: tumor invade uma das seguintes estruturas: músculo pterigoide externo; asa interna da apófise pterigoide, porção externa da nasofaringe; base do crânio; fáscia pré-vertebral ou engloba a artéria carótida

Quanto ao **número e localização de gânglios** linfáticos afetados (N):

N1: Afetação de um gânglio unilateral menor ou igual a 3cm, na sua maior dimensão

N2a: Adenopatia metastática unilateral entre 3 e 6cm, na sua maior dimensão

N2b: Adenopatias metastáticas homolaterais múltiplas menores ou iguais a 6cm, nas suas maiores dimensões

N2c: Adenopatias metastáticas bilaterais ou contralaterais menores ou iguais a 6cm, nas suas maiores dimensões

N3: Adenopatias metastáticas maiores do que 6cm

Estadiamento

0: Tis N0 M0

I: T1 N0 M0

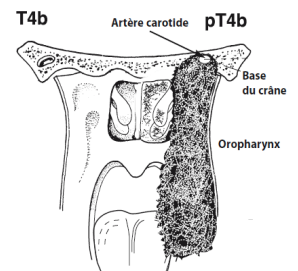
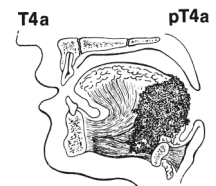
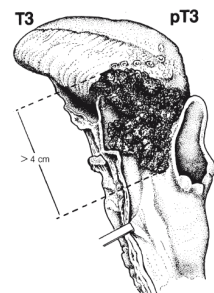
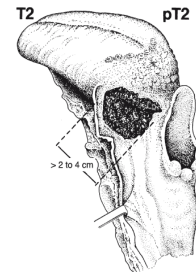
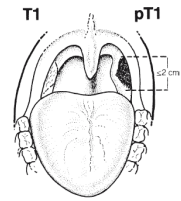
II: T1 N1 M0; T2 N0 M0; T2 N1 M0

III: T1 N2 M0; T2 N2 M0; T3 N0 M0; T3 N1 M0; T3 N2 M0

IV-A: T4 N0 M0; T4 N1 M0; T4 N2 M0

IV-B: Qualquer T N3 M0

IV-C: Qualquer T Qualquer N M1



Nasofaringe

Quanto ao **tamanho e extensão** do tumor (T):

T1: tumor limitado apenas a uma das regiões da Nasofaringe

T2: tumor estende-se às partes moles da Orofaringe e/ou às Fossas Nasais

T2a: Sem extensão à Nasofaringe

T2b: Com extensão à Nasofaringe

T3: tumor invade estruturas ósseas ou os Seios Maxilares

T4: tumor com extensão intracraniana e/ou atingindo nervos cranianos, atingindo a fossa infra-temporal, a hipofaringe, a órbita ou o espaço mastigatório

Quanto ao **número e localização de gânglios** linfáticos afetados (N):

N1: Metástases ganglionares unilaterais, de tamanho menor ou igual a 6cm, na sua maior dimensão, situando-se acima da fossa supra-clavicular

N2: Metástases ganglionares bilaterais, de tamanho menor ou igual a 6cm, na sua maior dimensão, situando-se acima da fossa supra-clavicular

N3:

N3a: Afetação ganglionar com tamanho maior do que 6cm

N3b: Afetação ganglionar localizada ao nível da fossa supra-clavicular

Estadiamento (TNM):

0: Tis N0 M0

I: T1 N0 M0

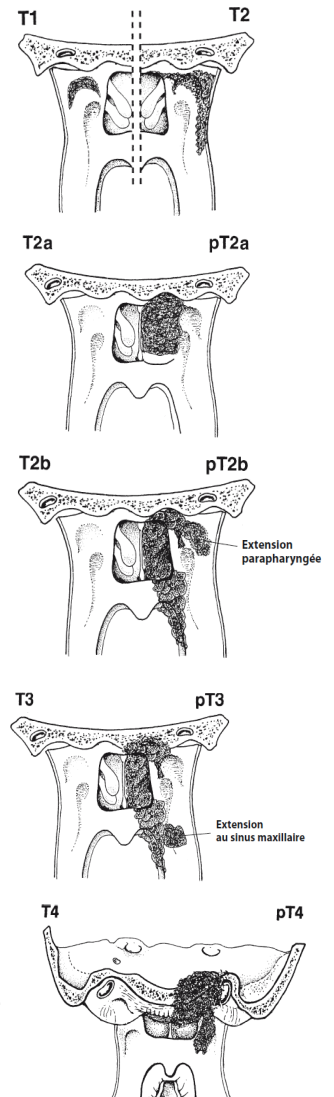
II: T1 N1 M0; T2 N0 M0; T2 N1 M0

III: T1 N2 M0; T2 N2 M0; T3 N0 M0; T3 N1 M0; T3 N2 M0

IV-A: T4 N0 M0; T4 N1 M0; T4 N2 M0

IV-B: Qualquer T N3 M0

IV-C: Qualquer T Qualquer N M1



Hipofaringe

Quanto ao **tamanho e extensão** do tumor (T):

T1: tumor limitado apenas a uma região da Hipofaringe, de tamanho menor ou igual a 2cm, na sua maior dimensão

T2: tumor invade mais do que uma região da Hipofaringe

ou invade estruturas adjacentes, apresenta tamanho entre 2 a 4cm, na sua maior dimensão, e não apresenta fixação da laringe

T3: tumor de tamanho maior do que 4cm, na sua maior dimensão ou apresentando fixação da hemilaringe

T4a: tumor invade uma das seguintes estruturas: Cartilagem Cricóide ou Tiróide; Osso Hióide; Glândula Tiróide; Esófago e tecidos moles do pescoço

T4b: tumor invade a fáscia pré-vertebral, engloba a artéria carótida ou invade as estruturas do Mediastino

Quanto ao **número e localização de gânglios** linfáticos afetados (N):

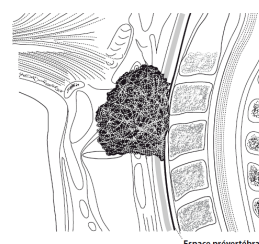
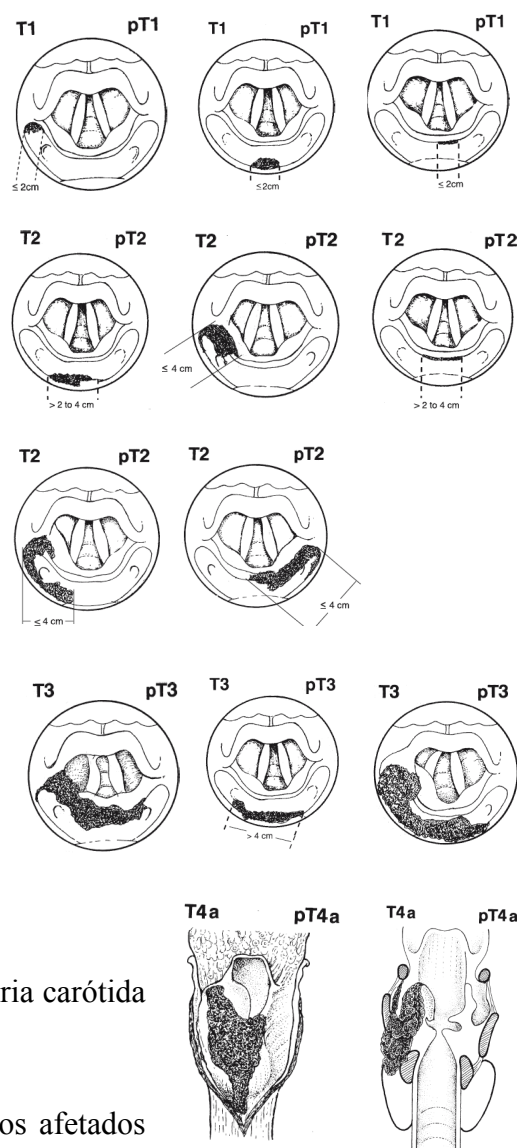
N1: Afetação de um gânglio unilateral menor ou igual a 3cm, na sua maior dimensão

N2a: Adenopatia metastática unilateral entre 3 e 6cm, na sua maior dimensão

N2b: Adenopatias metastáticas homolaterais múltiplas menores ou iguais a 6cm, nas suas maiores dimensões

N2c: Adenopatias metastáticas bilaterais ou contralaterais menores ou iguais a 6cm, nas suas maiores dimensões

N3: Adenopatias metastáticas maiores do que 6cm



Estadiamento (TNM):

0: Tis N0 M0

I: T1 N0 M0

II: T1 N1 M0; T2 N0 M0; T2 N1 M0

III: T1 N2 M0; T2 N2 M0; T3 N0 M0; T3 N1 M0; T3 N2 M0

IV-A: T4 N0 M0; T4 N1 M0; T4 N2 M0

IV-B: •Qualquer T N3 M0

IV-C: Qualquer T Qualquer N M1

Anexo 3 – Classificação TNM de cancro laríngeo

Cavidade Supra-Glótica

Quanto ao **tamanho e extensão** do tumor (T):

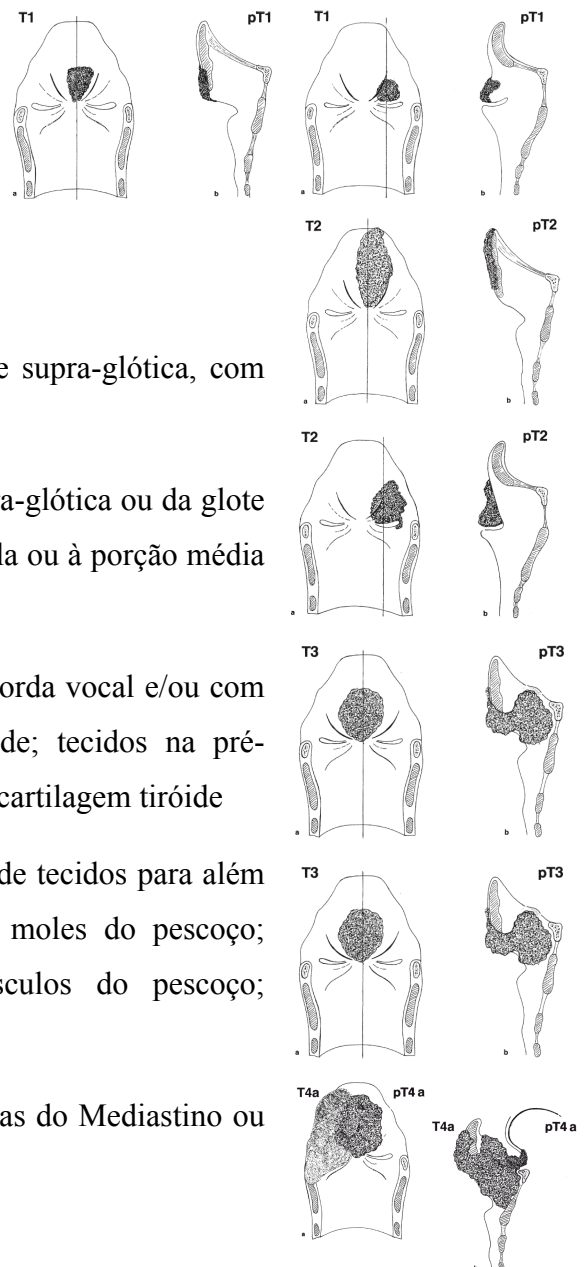
T1: tumor limitado a uma das regiões da cavidade supra-glótica, com mobilidade normal das cordas vocais

T2: tumor com extensão à mucosa da cavidade supra-glótica ou da glote (por exemplo, à mucosa da base da língua, à valecula ou à porção média do seio piriforme), sem fixação da laringe

T3: tumor limitado à laringe com fixação de uma corda vocal e/ou com invasão das seguintes estruturas: zona pós-cricóide; tecidos na pré-epiglote; espaço paraglótico e/ou erosão mínima na cartilagem tiróide

T4a: tumor atravessa a cartilagem tiróide e/ou invade tecidos para além da laringe, como por exemplo: traqueia; tecidos moles do pescoço; músculos profundos/extrínsecos da língua; músculos do pescoço; tiroide; esófago

T4b: tumor invade espaço pré-vertebral, as estruturas do Mediastino ou engloba a artéria Carótida



Quanto ao **número e localização de gânglios** linfáticos afetados (N):

N1: Afetação de um gânglio unilateral menor ou igual a 3cm, na sua maior dimensão

N2a: Adenopatia metastática unilateral entre 3 e 6cm, na sua maior dimensão

N2b: Adenopatias metastáticas homolaterais múltiplas menores ou iguais a 6cm, nas suas maiores dimensões

N2c: Adenopatias metastáticas bilaterais ou contralaterais menores ou iguais a 6cm, nas suas maiores dimensões

N3: Adenopatias metastáticas maiores do que 6cm

Anexo 4 – Classificação TNM de cancro na cavidade nasal e seios paranasais

Seio Maxilar

Quanto ao **tamanho e extensão** do tumor (T):

T1: tumor limitado à mucosa sem ulceração ou envolvimento ósseo

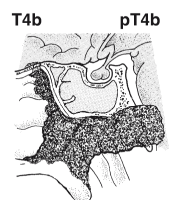
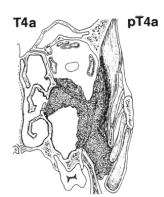
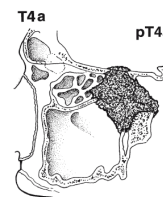
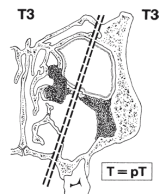
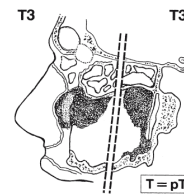
T2: tumor apresentando erosão e destruição óssea, exceto na porção posterior

da cavidade, mas incluindo o véu do palato e/ou o meato nasal médio

T3: tumor invade uma das seguintes estruturas: porção posterior óssea do seio maxilar; tecidos sub-cutâneos; pavimento da órbita; fossa pterigoide ou seio etmoidal

T4a: tumor invade uma das seguintes estruturas: região anterior da órbita; pele da face; asa interna da apófise pterigoide; fossa infra-temporal; fáscia cribiforme; seio esfenoidal ou frontal

T4b: tumor invade uma das seguintes estruturas: tecto da órbita; dura-máter; cérebro; fossa cerebral mediana; nervos cranianos e ramos do nervo maxilar superior (ramo do nervo trigémio); nasofaringe ou clivus



Quanto ao **número e localização de gânglios** linfáticos afetados (N):

N1: Afetação de um gânglio unilateral menor ou igual a 3cm, na sua maior dimensão

N2a: Adenopatia metastática unilateral entre 3 e 6cm, na sua maior dimensão

N2b: Adenopatias metastáticas homolaterais múltiplas menores ou iguais a 6cm, nas suas maiores dimensões

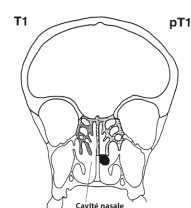
N2c: Adenopatias metastáticas bilaterais ou contralaterais menores ou iguais a 6cm, nas suas maiores dimensões

N3: Adenopatias metastáticas maiores do que 6cm

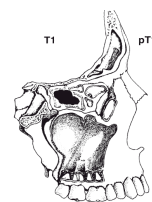
Seio Etmoidal e Fossas Nasais

Quanto ao **tamanho e extensão** do tumor (T):

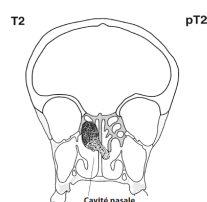
T1: tumor limitado a um local do seio ou das fossas, sem envolvimento ósseo



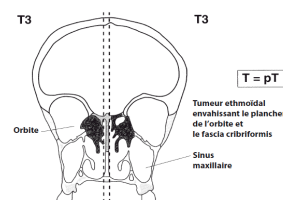
T2: tumor invade duas porções do mesmo local ou estruturas adjacentes ao complexo naso-etmoidal, com ou sem envolvimento ósseo



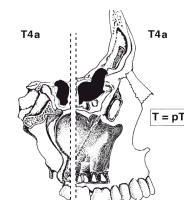
T3: tumor invade uma das seguintes estruturas: pavimento da órbita; seio maxilar; palato; ou fáscia cribiforme



T4a: tumor invade uma das seguintes estruturas: região anterior da órbita; pele do nariz ou face; extensão mínima da fossa cerebral anterior; asa interna da apófise pterigoide; seio esfenoidal ou frontal

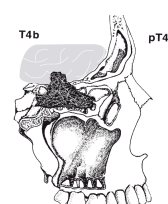


T4b: tumor invade uma das seguintes estruturas: tecto da órbita; dura-máter; cérebro; fossa cerebral mediana; nervos cranianos e ramos do nervo maxilar superior (ramo do nervo trigémio); nasofaringe ou clivus



Quanto ao **número e localização de gânglios** linfáticos afetados (N):

N1: Afetação de um gânglio unilateral menor ou igual a 3cm, na sua maior dimensão



N2a: Adenopatia metastática unilateral entre 3 e 6cm, na sua maior dimensão

N2b: Adenopatias metastáticas homolaterais múltiplas menores ou iguais a 6cm, nas suas maiores dimensões

N2c: Adenopatias metastáticas bilaterais ou contralaterais menores ou iguais a 6cm, nas suas maiores dimensões

N3: Adenopatias metastáticas maiores do que 6cm

Estadiamento (TNM):

0: Tis N0 M0

I: T1 N0 M0

II: T2 N0 M0

III: T3 N0 M0; T1 N1 M0; T2 N1 M0; T3 N1 M0

IV-A: T4a N0 M0; T4a N1 M0; T1 N2 M0; T2 N2 M0; T3 N2 M0

IV-B: T4b Qualquer N M0; Qualquer T N3 M0

IV-C: Qualquer T Qualquer N M1

Anexo 5 - Classificação da mucosite segundo a OMS e a CTCAE v4.03 (Lalla *et al.*, 2014):

	Grau 0	Grau 1	Grau 2	Grau 3	Grau 4	Grau 5
OMS	Não apresenta mucosite	Presença de eritema e dores	Presença de úlceras, que permitem alimentação sólida	Presença de úlceras que só permitem alimentação líquida	Presença de úlceras que não permitem alimentação	
CTCAE		Assintomática ou com sintomas moderados, sem indicação para intervir	Dor moderada que não interfere com a alimentação, mas implica modificar a dieta	Dor severa que interfere com a alimentação	Consequências com perigo para a vida, necessita de intervenção	Morte

Anexo 6 – Guidelines sobre o estado nutricional dos doentes com cancro de cabeça e pescoço e considerações sobre o uso profilático de PEG (Schoeff *et al.*, 2013)

Recomendações sobre o estado nutricional global dos doentes:

- Deverá ser utilizada a via oral para alimentação se o estado nutricional se mantiver
- Deverá ser realizada uma monitorização dos doentes, mesmo após tratamento

Fatores que sugerem uma consideração sobre a colocação de PEG profilático:

- Perda de peso severa antes do tratamento
 - 5% no último mês;
 - 10% nos últimos seis meses.
- Sintomatologia instalada
 - Desidratação;
 - Disfagia severa;
 - Anorexia;
 - Odinofagia que interfere com a alimentação.
- Existência de co-morbilidades que levem à necessidade da manutenção de um bom estado nutricional para manter a saúde;
- Aspiração severa;
- Qualquer aspiração que ocorra em idosos ou em doentes com o sistema cardiovascular comprometido;
- Doentes que serão expostos a altas doses de radiação.